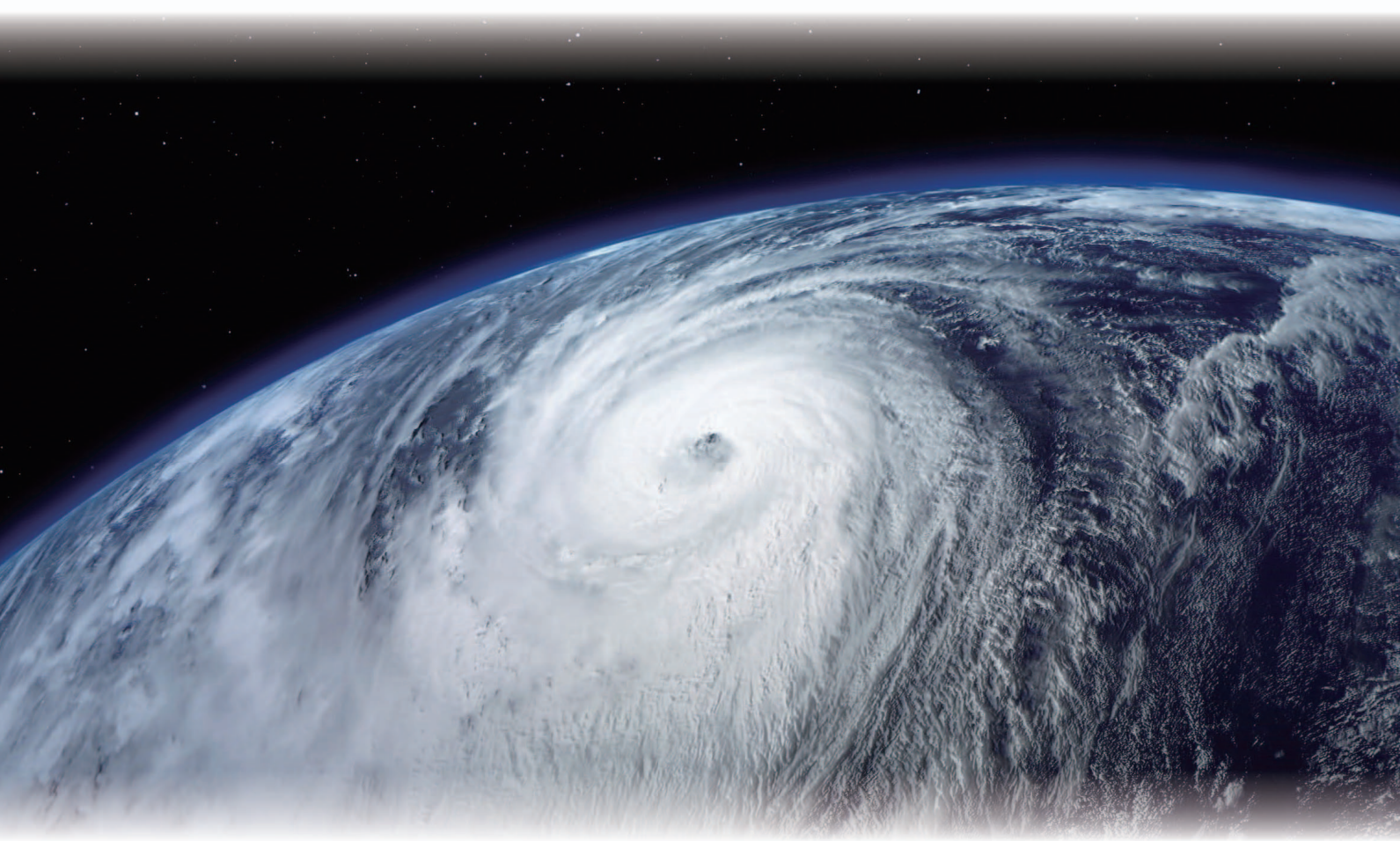


研究レポート集 2015

Report

第16号



THE YAKUMO FOUNDATION FOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

公益財団法人 八雲環境科学振興財団

設立の趣旨



今日の環境問題は、従来の公害問題とは異なり、日常的な事業活動や生活活動に起因する部分が非常に多く、また、地球環境問題が示すように空間的・時間的広がりをもつ深刻な問題であります。岡山県は、豊かな自然と温暖な気候に恵まれた風土を背景に、古代吉備文化に代表される古い歴史と多彩な文化を持つ住みよい地域であります。しかし、より便利で快適な暮らしへと進展していく中で、現状の自然環境，社会環境，生活環境などは必ずしもバランスのとれた状態とは言い難く、多くの問題を抱えているものと思われます。

株式会社エイト日本技術開発（旧株式会社エイトコンサルタント）は、昭和30年に八雲測量社として創業し、今日まで「自然との共生」を基本理念に、地域の社会資本整備の要請に応じて参りました。これまでの足跡を振り返りますと、今日の成果を成し遂げることができたのも、社会全般のご指導とご支援によるものと深く感謝するとともに、これまで以上の社会貢献ができないかと日頃配意しておりました。

このような中で、21世紀に向けた「環境」に関するテーマについて、産官学がより一体となった学術研究面での充実および地球環境保全を視野に入れた国際的な意識の醸成を奨励することが必要であると考えました。そして、環境科学に関する調査研究の推進や創造性豊かな研究者の養成を支援することにより、岡山県における学術および技術開発の進展並びに国際研究交流の増進に貢献していくことを目的として、平成10年7月29日、「財団法人 八雲環境科学振興財団」が設立され、おかげさまで17年目を迎えました。

今後とも当財団の育成につきまして、御協力、御支援を賜りますよう、よろしくお願い申し上げます。

公益財団法人 八雲環境科学振興財団
代表理事 小谷 裕 司

目 次

1. 巻頭言	1
2. 財団の概要	2
3. 役員等名簿	3
4. 定款	4
5. 平成26年度事業実施状況	13
6. 年度別助成事業実施状況	16
7. 研究発表会実施状況	25
8. 平成26年度環境研究助成報告	29
9. 平成26年度国際研究交流助成報告	100
10. 平成26年度研究集会助成報告	105
11. 平成26年度その他の助成報告	107
12. 助成実施要項	115
13. ご寄附のお願い	121

1. 巻頭言

政府の予測によれば、2050年には、我が国の総人口は1億人を大幅に割り込み、なおかつ、年齢別の人口構成は逆三角形となり、少数の若者が超多数の高齢者を支えていかなければならない社会となる。こうした状況を解決するため、政府は「まち・ひと・仕事」創生総合戦略という国を挙げての政策に取り組んでいる。

しかしながら、この政策の基本骨子は、戦後実施された第1次から第5次までの「全国総合開発計画」とほぼ類似している。これら全国総合開発計画の政策的な主要骨子は、国内の大規模中核都市（東京・名古屋・大阪・博多へ重点的な資本投資）と、地方の中小都市とを高速鉄道や高速道路などで結び、各都市をネットワーク化することにより、各都市の経済活力を向上させ、それらの総合効果として我が国全体の経済力向上を目的としていた。この政策は、高度経済成長という輝かしい成果を残している。しかしながらその反面、大規模中核都市と地方都市との間における経済力格差は拡大し、その結果、地方からの人口流出と経済活力の低下を引き起こした。とくに東京経済圏に人口が集中し、地方は人口減少に苦しむこととなった。今回の「まち・ひと・しごと」創生総合戦略も基本的な政策骨子は従来の総合開発計画と同じであるため、同様の結果を招く可能性は高い。全国レベルにおいても人口減・人口構成の逆ピラミッド化現象は進行するが、それに伴って発生する困難な問題は、地方において、より一層深刻となる可能性が高い。

また、巨額な国の財政赤字を考慮すれば、将来的には環境・防災などに関わる新たなインフラ整備に投資できる資金不足問題にも直面するであろう。さらに、高度経済成長期に建設された既存インフラの保全・管理に必要とされる資金確保も懸念される場所である。こうしたインフラの保全・管理問題は、環境保全や防災の視点からも注視されている現況であるが、地方においてより一層深刻さを増す可能性が高い。

財政面での制約などにより、行政側からの保全・管理水準が低下するのであれば、地域の人々が「自分たちで出来ることは自分たちでやる」という姿勢も大切になってくる。そのためには、かつての地域コミュニティ機能の再生が重要である。これら活動の結果、地域コミュニティが活性化すれば、資源管理や防災だけでなく、地域景観や地域の伝統文化なども活性化でき、地域の日常生活も豊かになると期待される。こうした取り組みが活発化すれば、その結果、地域コミュニティも活性化し、そのことが巡り巡って、地域の人口増加にも結びついてくるであろう。「まち・ひと・しごと」創生総合戦略においても、こうした視点での取組が為されることを期待している。

理事 佐藤 豊信
(岡山商科大学大学院 教授)

2. 財団の概要

名 称	公益財団法人 八雲環境科学振興財団
所 在 地	岡山県岡山市北区津島京町三丁目1番21号 (株式会社エイト日本技術開発内)
主務官庁	岡山県教育委員会
設立許可	平成10年7月29日 (平成14年8月26日 特定公益増進法人に認定) (平成24年10月1日 公益財団法人に移行)
出 捐 者	株式会社エイト日本技術開発 他
基本財産	2億6,982万円(平成27年3月末現在)
事業概要	(1) 環境研究助成事業 環境科学に関する研究費用の助成(年間12件程度) ①特定研究(テーマ指定) 一件当たり100万円以内 ②一般研究(テーマ自由) 一件当たり 50万円以内 (2) 国際研究交流助成事業 環境科学に関わる海外渡航費用の助成及び海外研究者招聘費用の 助成(年間4件程度) 一件当たり 20万円以内 (3) 研究集会助成事業 環境科学に関する研究集会等の開催費用の助成(年間2件程度) 一件当たり 30万円以内
助成対象	岡山県内の大学等の研究機関に所属する研究者又は研究グループ

3. 役員等名簿

役職名	氏 名	現 職 等
代表理事	小谷 裕司	(株)エイト日本技術開発 代表取締役社長
理 事	河野伊一郎	倉敷芸術科学大学学長
	赤木 靖春	学校法人加計学園専務理事
	沖 陽子	岡山大学副学長
	辻 英明	岡山県立大学学長
	佐藤 豊信	岡山商科大学大学院経済学研究科教授
	伊丹 文雄	E・Jホールディングス(株) 顧問
監 事	西田 秀史	弁護士
	石村 顕示	税理士
	小谷 浩治	E・Jホールディングス(株) 管理本部副本部長
評 議 員	本水 昌二	岡山大学名誉教授
	杉尾 剛	岡山大学名誉教授・杉尾化学合成独立栄養細菌研究所所長
	波田 善夫	岡山理科大学学長
	西垣 誠	岡山大学名誉教授
	阿部 宏史	岡山大学理事・副学長
	鳥越 良光	岡山商科大学名誉教授
	岩田 正晴	ロック地域計画事務所 代表
	谷本 俊夫	E・Jホールディングス(株) 顧問
	藤井 勉	(株)エイト日本技術開発 取締役
選考委員	稲井 寛	岡山県立大学情報工学部教授
	坂本 圭児	岡山大学大学院環境生命科学研究科教授
	星野 卓二	岡山理科大学総合情報学部教授
	大久保賢治	岡山大学大学院環境生命科学研究科教授
	神崎 浩	岡山大学大学院環境生命科学研究科長
	永井 泉治	(株)エイト日本技術開発 執行役員インフラ保全センター長

4. 定款

公益財団法人 八雲環境科学振興財団 定款 第1章 総則

(名称)

第1条 この法人は、公益財団法人八雲環境科学振興財団（英文名：Yakumo Foundation for Environmental Science）と称する。

(事業所)

第2条 この法人は、主たる事務所を岡山県岡山市に置く。

第2章 目的及び事業

(目的)

第3条 この法人は、環境科学に関する調査研究の推進や創造性豊かな研究者の養成を援助・支援することによって、環境科学の振興を図り、もって学術及び技術開発の進展に寄与することを目的とする。

(事業)

第4条 この法人は、前条の目的を達成するため、次の事業を行う。

- (1) 環境科学に関する調査研究の助成及び研究者の養成援助
 - (2) 環境科学に関する国際研究集会等への派遣並びに国際研究交流の助成
 - (3) 環境科学に関する学術講演会、フォーラム、シンポジウム、研究集会等の助成
 - (4) 環境教育活動への支援等による環境科学の啓発
 - (5) 環境科学に関するフォーラム、シンポジウム、セミナー、研究発表会等の開催
 - (6) 出版物の編集および刊行
 - (7) 環境科学に関する技術開発・実用化に向けた研究開発等の企画、資料・情報の収集及び提供、調査・研究及び支援
 - (8) その他前条の目的を達成するために必要な事業
- 2 前項の事業については、岡山県において行うものとする。

(事業年度)

第5条 この法人の事業年度は、毎年4月1日に始まり、翌年3月31日に終わる。

第3章 財産及び会計

(財産の種類)

第6条 この法人の財産は、基本財産及びその他の財産の2種とする。

2 基本財産は、この法人の目的である事業を行うために不可欠なものとして理事会及び評議員会で定めた財産とする。

3 その他の財産は、基本財産以外の財産とする。

(基本財産の維持及び処分)

第7条 基本財産については、適正な維持及び管理に努めるものとする。

2 この法人の公益目的事業遂行上やむを得ない理由があるときは、理事会の議決に加わることのできる理事の3分の2以上の議決を経て、評議員会において、議決に加わることのできる評議員の3分の2以上の議決により承認を得た後、基本財産の全部若しくは一部を処分又は担保に提供することができる。

(財産の管理・運用)

第8条 この法人の財産の管理及び運用は、理事長が行うものとし、その方法は理事会で定める。

2 財産は、安全確実な方法で運用しなければならない。

(事業計画及び収支予算)

第9条 この法人の事業計画書、収支予算書については、毎事業年度の開始日の前日までに、理事長が作

成し、理事会の決議を経て、評議員会の承認を受けなければならない。これらを変更する場合も同様とする。

2 前項の書類については、毎事業年度の開始日の前日までに行政庁に提出し、主たる事務所に、当該事業年度が終了するまでの間備え置き、一般の閲覧に供するものとする。

(事業報告及び決算)

第10条 この法人の事業報告及び決算については、毎事業年度終了後、理事長が次の書類を作成し、監事の監査を受けた上で、理事会の承認を経て、定時評議員会に提出し、第1号及び第2号の書類についてはその内容を報告し、第3号から第6号までの書類については承認を受けなければならない。

- (1) 事業報告書
- (2) 事業報告の附属明細書
- (3) 貸借対照表
- (4) 正味財産増減計算書
- (5) 貸借対照表及び正味財産増減計算書の附属明細書
- (6) 財産目録

2 前項の計算書類等については、毎事業年度の終了後3ヶ月以内に行政庁に提出するものとする。

3 第1項の書類のほか、次の書類を主たる事務所に5年間備え置き、一般の閲覧に供するとともに、定款を主たる事務所に備え置き、一般の閲覧に供するものとする。

- (1) 監査報告
- (2) 理事及び監事並びに評議員の名簿
- (3) 理事及び監事並びに評議員の報酬等の支給の基準を記載した書類
- (4) 運営組織及び事業活動の状況の概要及びこれらに関する数値のうち重要なものを記載した書類
(公益目的取得財産残額の算定)

第11条 理事長は、公益社団法人及び公益財団法人の認定等に関する法律施行規則第48条の規定に基づき、毎事業年度、当該事業年度の末日における公益目的取得財産残額を算定し、前条第3項第4号の書類に記載するものとする。

(長期借入金及び重要な財産の処分又は譲受け)

第12条 この法人が資金の借入をしようとするときは、その事業年度の収入をもって償還する短期借入金を除き、評議員会においては評議員の総数及び理事会においては理事の総数の3分の2以上の議決を経なければならない。

2 この法人が重要な財産の処分又は譲受けを行おうとするときも、前項と同じ議決を経なければならない。

(会計原則)

第13条 この法人の会計は、一般に公正妥当と認められる公益法人の会計の慣行に従うものとする。

第4章 評議員

(定数)

第14条 この法人に、評議員7名以上10名以内を置く。

(評議員の選任及び解任)

第15条 評議員の選任及び解任は、一般社団法人及び一般財団法人に関する法律第179条から第195条の規定に従い、評議員会において行う。

2 評議員を選任する場合には、次の各号の要件をいずれも満たさなければならない。

(1) 各評議員について、次のイからへに該当する評議員の合計数が評議員の総数の3分の1を超えないものであること。

イ 当該評議員及びその配偶者又はその親族

ロ 当該評議員と婚姻の届出をしていないが事実上婚姻関係と同様の事情にある者

ハ 当該評議員の使用人

ニ ロ又はハに掲げる者以外の者であつて、当該評議員から受ける金銭その他の財産によって生計を維持しているもの

ホ ハ又はニに掲げる者の配偶者

ヘ ロからニまでに掲げる者の親族であつて、これらの者と生計を一にするもの

(2) 他の同一の団体(公益法人を除く。)の次のイからニに該当する評議員の合計数が評議員の総数の3分

の1を超えないものであること。

イ 理事

ロ 使用人

ハ 当該他の同一の団体の理事以外の役員（法人でない団体で代表者又は管理人の定めのあるものにあつては、その代表者又は管理人）又は業務を執行する社員である者

ニ 次に掲げる団体においてその職員（国会議員及び地方公共団体の議会の議員を除く。）である者

① 国の機関

② 地方公共団体

③ 独立行政法人通則法第2条第1項に規定する独立行政法人

④ 国立大学法人法第2条第1項に規定する国立大学法人又は同条第3項に規定する大学共同利用機関法人

⑤ 地方独立行政法人法第2条第1項に規定する地方独立行政法人

⑥ 特殊法人（特別の法律により特別の設立行為をもって設立された法人であつて、総務省設置法第4条第15号の規定の適用を受けるものをいう。）又は認可法人（特別の法律により設立され、かつ、その設立に関し行政官庁の認可を要する法人をいう。）

3 評議員は、この法人の理事又は監事若しくは使用人を兼ねることができない。

4 評議員に異動があつたときは、2週間以内に登記し、登記事項証明書等を添え、遅滞なくその旨を行政官庁に届け出なければならない。

（権 限）

第16条 評議員は、評議員会を構成し、第20条に規定する事項を決議する。

（任 期）

第17条 評議員の任期は、選任後4年以内に終了する事業年度のうち最終のものに関する定時評議員会の終結の時までとする。ただし、再任を妨げない。

2 任期満了前に退任した評議員の補欠として選任された評議員の任期は、退任した評議員の任期の満了する時までとする。

3 評議員は、第14条に定める定数に足りなくなるときは、任期の満了又は辞任により退任した後も、新たに選任された者が就任するまで、なお評議員としての権利義務を有する。

（報酬等）

第18条 評議員は無報酬とする。

2 評議員には、その職務を行うために要する費用の支払いをすることができる。

第5章 評議員会

（構 成）

第19条 評議員会は、すべての評議員をもって構成する。

（権 限）

第20条 評議員会は、次の事項について決議する。

(1) 理事及び監事の選任及び解任

(2) 理事及び監事の報酬等の額

(3) 役員及び評議員に対する報酬等の支給の基準

(4) 定款の変更

(5) 事業計画及び収支予算の承認

(6) 貸借対照表及び正味財産増減計算書類の承認並びにこれらの付属明細書の承認

(7) 残余財産の処分

(8) 基本財産の処分又は除外の承認

(9) その他評議員会で決議するものとして法令又はこの定款で定められた事項

2 前項の規定にかかわらず、個々の評議員会においては、第23条第1項の書面に記載した評議員会の目的である事項以外の事項は、決議することができない。

（種類及び開催）

第21条 評議員会は、定時評議員会として毎年度5月に1回開催するほか、必要がある場合に開催する。

(招集)

- 第22条 評議員会は、法令に別段の定めがある場合を除き、理事会の決議に基づき理事長が招集する。
- 2 評議員は、理事に対し、評議員会の目的である事項及び招集の理由を示して、評議員会の招集を請求することができる。
- 3 前項による請求があったときは、理事長は遅滞なく評議員会を招集しなければならない。

(招集の通知)

- 第23条 理事長は、評議員会の開催日の5日前までに、評議員に対して、会議の日時、場所、目的である事項を記載した書面をもって招集の通知を発しなければならない。
- 2 前項にかかわらず、評議員全員の同意があるときは、招集の手続きを経ることなく、評議員会を開催することができる。

(議長)

- 第24条 評議員会の議長は、その評議員会において、出席した評議員の中から選出する。

(定足数)

- 第25条 評議員会は、評議員の過半数の出席がなければ開催することができない。

(決議)

- 第26条 評議員会の決議は、法令又はこの定款に別段の定めがある場合を除き、決議について特別の利害関係を有する評議員を除く評議員の過半数が出席し、その過半数をもって行なう。
- 2 前項の規定にかかわらず、次の決議は、決議について特別の利害関係を有する評議員を除く評議員の3分の2以上に当る多数をもって行なわなければならない。

- (1) 監事の解任
- (2) 評議員に対する報酬等の支給の基準
- (3) 定款の変更
- (4) 基本財産の処分又は除外の承認
- (5) その他法令で定められた事項

- 3 理事又は監事を選任する議案を決議するに際しては、各候補者ごとに第1項の決議を行なわなければならない。理事又は監事の候補者の合計数が第30条に定める定数を上回る場合には、過半数の賛成を得た候補者の中から得票数の多い順に定数の枠に達するまでの者を選任することとする。

(決議の省略)

- 第27条 理事が評議員会の目的である事項について提案した場合において、その提案について、議決に加わることのできる評議員の全員が書面又は電磁的記録により同意の意思表示をしたときは、その提案を可決する旨の評議員会の決議があったものとみなす。

(報告の省略)

- 第28条 理事が評議員の全員に対し、評議員会に報告すべき事項を通知した場合において、その事項を評議員会に報告することを要しないことについて、評議員の全員が書面又は電磁的記録により同意の意思表示をしたときは、その事項の評議員会への報告があったものとみなす。

(議事録)

- 第29条 評議員会の議事録については、法令で定めるところにより、議事録を作成する。
- 2 議長とその会議に出席した評議員2人は、前項の議事録に記名押印する。

第6章 役員等

(役員の設置)

- 第30条 この法人に、次の役員を置く。
- (1) 理事 6名以上9名以内
 - (2) 監事 3名

- 2 理事のうち1名を理事長とし、この者をもって、一般社団法人及び一般財団法人に関する法律上の代表理事とする。

(役員を選任)

第31条 理事及び監事は、評議員会の決議によって選任する。

2 理事長は、理事会の決議によって理事の中から選定する。

3 監事は、この法人の理事又は使用人を兼ねることができない。

4 理事のうち、理事のいずれか1名とその配偶者又はその親族その他法令で定める特別の関係にある者の合計数は、理事総数の3分の1を超えてはならない。監事についても、同様とする。

5 他の同一の団体（公益法人を除く）の理事又は使用人である者その他これに準ずる相互に密接な関係にある者として法令で定める者である理事の合計数は、理事の総数の3分の1を超えてはならない。監事についても、同様とする。

6 理事又は監事に異動があったときは、2週間以内に登記し、登記事項証明書等を添え、遅滞なくその旨を行政庁に届け出るものとする。

(理事の職務及び権限)

第32条 理事は、理事会を構成し、法令及びこの定款で定めるところにより、職務を執行する。

2 理事長は、法令及びこの定款で定めるところにより、この法人を代表し、その業務を執行する。

3 理事長は、毎事業年度に4ヶ月を超える間隔で2回以上、自己の職務の執行の状況を理事会に報告しなければならない。

(監事の職務及び権限)

第33条 監事は、次に掲げる職務を行う。

(1) 理事の職務執行を監査し、法令で定めるところにより、監査報告を作成する。

(2) 監事は、いつでも、理事及び使用人に対して事業の報告を求め、この法人の業務及び財産の状況の調査をすること、並びに各事業年度に係る計算書類及び事業報告書を監査すること。

(3) 評議員会及び理事会に出席し、必要であると認めるときは意見を述べること。

(4) 理事が不正の行為をし、若しくはその行為をするおそれがあると認めるとき、又は法令若しくは定款に違反する事実若しくは著しく不当な事実があると認めるときは、これを理事会に報告すること。

(5) 前号の報告をするために必要があるときは、理事長に理事会の招集を請求する

こと。但し、その請求があった日から5日以内に、2週間以内の日を理事会とする招集通知が発せられない場合は、直接理事会を招集すること。

(6) 理事が評議員会に提出しようとする議案、書類その他法令で定めるものを調査し、法令若しくは定款に違反し、又は著しく不当な事項があると認めるときは、その調査の結果を評議員会に報告すること。

(7) 理事がこの法人の目的の範囲外の行為その他法令若しくは定款に違反する行為をし、又はその行為をするおそれがある場合において、その行為によってこの法人に著しい損害が生ずるおそれがあるときは、その理事に対し、その行為をやめることを請求すること。

(8) その他監事に認められた法令上の権限を行使すること。

(役員任期)

第34条 理事及び監事の任期は、選任後2年以内に終了する事業年度のうち最終のものに関する定時評議員会の終結の時までとする。ただし、再任を妨げない。

2 補欠として選任された理事又は監事の任期は、前任者の任期の満了する時までとする。

3 理事又は監事は、第30条に定める定数に足りなくなるときは、辞任又は任期終了後においても、新たに選任された者が就任するまで、なお理事又は監事としての権利義務を有する。

(役員解任)

第35条 理事又は監事が、次のいずれかに該当するときは、評議員会の決議によって解任することができる。ただし、監事を解任する場合は、議決に加わることでできる評議員の3分の2以上の議決に基づいて行わなければならない。

(1) 職務上の義務に違反し、又は職務を怠ったとき

(2) 心身の故障のため、職務の執行に支障があり、又はこれに堪えないと認められるとき。

(報酬等)

第36条 役員は無報酬とする。

2 役員には、その職務を執行するために要する費用の支払いをすることができる。

(取引の制限)

第37条 理事が次に掲げる取引をしようとする場合は、その取引について重要な事実を開示し、理事会の承認を得なければならない。

- (1) 自己又は第三者のためにする、この法人の事業の部類に属する取引
 - (2) 自己又は第三者のためにする、この法人との取引
 - (3) この法人がその理事の債務を保証することその他理事以外の者との間におけるこの法人とその理事との利益が相反する取引
- 2 前項の取引をした理事は、その取引の重要な事実を遅滞なく、理事会に報告しなければならない。

(責任の免除)

第38条 この法人は、役員的一般社団法人及び一般財団法人に関する法律第198条において準用される第111条第1項の賠償責任について、法令に定める要件に該当する場合には、理事会の決議によって、賠償責任額から法令に定める最低責任限度額を控除して得た額を限度として、免除することができる。

(顧問)

第39条 この法人に、顧問を若干名おくことができる。

- 2 顧問は、学識経験者又はこの法人に功労のあった者のうちから、理事会において選任する。
- 3 顧問の任期は、2年とする。ただし、再任を妨げない。
- 4 顧問は、無報酬とする。ただし、その職務を行うために要する費用の支払いをすることができる。

(顧問の職務)

第40条 顧問は、理事長の諮問に応え、理事長に対し、意見を述べることができる。

第7章 理事会

(構成)

第41条 理事会は、すべての理事をもって構成する。

(権限)

第42条 理事会は、次の職務を行なう。

- (1) 評議員会の日時及び場所並びに目的である事項の決定
 - (2) 規則の制定、変更及び廃止に関する事項
 - (3) 前各号に定めるもののほか、この法人の業務執行の決定
 - (4) 理事の職務の執行の監督
 - (5) 理事長の選任及び解職
- 2 理事会は次に掲げる事項その他の重要な業務執行の決定を、理事に委任することができない。
- (1) 重要な財産の処分及び譲受け
 - (2) 多額の借財
 - (3) 重要な使用人の選任及び解任
 - (4) 第38条の責任の免除

(種類及び開催)

第43条 理事会は、通常理事会及び臨時理事会の2種とする。

2 通常理事会は、毎事業年度に4ヶ月を超える間隔で2回以上開催する。

3 臨時理事会は、次の各号の一に該当する場合に開催する。

- (1) 理事長が必要と認めたとき
- (2) 理事長以外の理事から会議の目的である事項を記載した書面をもって理事長に招集の請求があったとき
- (3) 前号の請求があった日から5日以内に、その日から2週間以内の日を理事会とする理事会の招集通知が発せられない場合に、その請求をした理事が招集したとき
- (4) 第33条第5号の規定により、監事から理事長に招集の請求があったとき、又は監事が招集したとき

(招集)

第44条 理事会は、理事長が招集する。ただし、前条第3項第3号により理事が招集する場合及び前条第3項第4号後段により監事が招集する場合を除く。

2 理事長は、前条第3項第2号又は第4号前段に該当する場合は、その請求の日から2週間以内の日を臨時理事会の開催日として招集しなければならない。

3 理事会を招集するときは、会議の日時、場所、目的である事項を記載した書面をもって、開催日の5日前までに、役員に通知しなければならない。

4 前項の規定にかかわらず、役員の実員の同意があるときは、招集の手続きを経ることなく理事会を開催することができる。

5 理事長に事故があるとき又は理事長が欠けたときは、各理事が理事会を招集する。

(議長)

第45条 理事会の議長は、理事長がこれに当たる。

(定足数)

第46条 理事会は、理事の過半数以上の出席がなければ会議を開くことができない。

(決議)

第47条 理事会の決議は、決議について特別の利害関係を有する理事を除く理事の過半数が出席し、その過半数をもって行なう。

(決議の省略)

第48条 理事が理事会の決議の目的である事項について提案した場合において、その提案について、議決に加わることのできる理事の実員が書面又は電磁的記録により同意の意思表示をしたときは、その提案を可決する旨の理事会の決議があったものとみなすものとする。ただし、監事が異議を述べたときは、その限りではない。

(報告の省略)

第49条 理事又は監事が理事及び監事の実員に対し、理事会に報告すべき事項を通知したときは、その事項を理事会に報告することを要しない。

2 前項の規定は、第32条第3項の規定による報告には適用しない。

(議事録)

第50条 理事会の議事については、法令で定めるところにより、議事録を作成する。

2 出席した理事長及び監事は、前項の議事録に記名押印する。

第8章 委員会

(委員会)

第51条 この法人の事業を推進するために、理事会はその決議により、委員会を設置することができる。

2 委員会の任務、構成及び運営に関し必要な事項は、理事会の決議により別に定める。

(選考委員会及び委員構成等)

第52条 この法人は、第4条第1項第1号から第3号に定める助成の対象となる者を選考するために、選考委員会を置く。

2 選考委員会は、6名以上9名以内の委員をもって組織する。

3 選考委員会の委員は、その3分の2以上が学識経験者でなければならない。

4 前項の委員は、この法人の理事及び評議員以外の者から、理事会で選出し、理事長が委嘱する。

5 選考委員会の議事の運営の細則等は、理事会が決定する。

(選考委員の任期)

第53条 選考委員の任期は、2年とする。ただし、再任を妨げない。

2 補欠又は増員により選任された選考委員の任期は、前任者又は現任者の残任期間とする。

3 選考委員は、その任期満了後でも、後任者が就任するまでは、なおその職務を行う。

(選考委員の解任)

第54条 選考委員が、次のいずれかに該当するときは、理事現在数及び評議員現在数の各々の3分の2以上の議決により、理事長がこれを解任することができる。

(1) 職務上の義務違反その他選考委員たるにふさわしくない行為があると認められるとき

(2) 心身の故障のため、職務の執行に支障があり、又はこれに堪えないと認められるとき

2 前項の場合、当該選考委員にあらかじめ通知するとともに、理事会及び評議員会で議決する前に、当該

選考委員に弁明の機会を与えなければならない。

3 前項の場合において、やむを得ない理由があるときは、当該選考委員から提出された弁明書をもってこれにかえることができる。なお、弁明書が一定の期限までに提出がなされないときは、第1項に規定する議決のみにて解任することができる。

第9章 定款の変更、合併及び解散等

(定款の変更)

第55条 この定款は、評議員会において、議決に加わることのできる評議員の3分2以上の議決を経て変更することができる。

2 前項の規定は、この定款の第3条「目的」、第4条「事業」及び第15条「評議員の選任及び解任」についても適用する。

3 公益社団法人及び公益財団法人の認定等に関する法律第11条第1項各号に掲げる事項に係る定款の変更（軽微なものを除く）をしようとするときは、その事項の変更につき、行政庁の認定を受けなければならない。

4 前項以外の変更を行った場合は、遅滞なくその旨を行政庁に届け出なければならない。

(解散)

第56条 この法人は、基本財産の滅失によるこの法人の目的である事業の成功の不能その他法令で定められた事由によって解散する。

(公益認定の取消し等に伴う贈与)

第57条 この法人が公益認定の取消しの処分を受けた場合又は合併により法人が消滅する場合（その権利義務を承継する法人が公益法人であるときを除く。）には、評議員会の決議を経て、公益目的取得財産残額に相当する額の財産を、当該公益認定の取消しの日又は当該合併の日から1ヶ月以内に、公益社団法人及び公益財団法人の認定等に関する法律第5条第17号に掲げる法人又は国若しくは地方公共団体に贈与するものとする。

(残余財産の帰属)

第58条 この法人が清算をする場合において有する残余財産は、評議員会の決議を経て、国若しくは地方公共団体又は公益社団法人及び公益財団法人の認定等に関する法律第5条第17号に掲げる法人に贈与するものとする。

第10章 事務局

(事務局及び職員)

第59条 この法人の事務を処理するため、事務局を設置する。

2 事務局には、必要の職員を置く。

3 重要な職員は、理事長が理事会の承認を得て任免する。

4 職員は有給とすることができる。

5 事務局の組織及び運営に関し必要な事項は、理事長が理事会の議決を経て、別に定める。

(備え付け帳簿及び書類等)

第60条 この法人の事務所には、常に次に掲げる帳簿及び書類を備えておかななければならない。ただし、他の法令によりこれらに代わる書類及び帳簿を備えたときは、この限りではない。

(1) 定款

(2) 役員、評議員及びその他の職員の名簿、役員就任承諾書並びに履歴書

(3) 認定、許可、許可等及び登記に関する書類

(4) 定款に定める機関（理事会及び評議員会）の議事に関する書類

(5) 財産目録

(6) 役員等の報酬等に関する規定

(7) 事業計画書及び収支予算書

(8) 事業報告書及び計算書類等

(9) 監査報告書

(10) 行政庁からの示達文書

(11) その他法令で定める帳簿及び書類

2 前項各号の帳簿及び書類の閲覧については、法令の定めによる。

第11章 情報公開及び個人情報の保護

(情報公開)

第61条 この法人は、公正で開かれた活動を推進するため、その活動状況、運営内容、財務資料等を積極的に公開するものとする。

(個人情報の保護)

第62条 この法人は、業務上知り得た個人情報の保護に万全を期すものとする。

(公告の方法)

第63条 この法人の公告は、電子公告により行なう。

2 事故その他やむを得ない事由により、電子公告をすることができない場合は、官報に掲載する方法による。

第12章 補則

(株式の権利行使の制限)

第64条 この法人が保有する株式について、その株式の発行会社に対して株主としての権利を行使する場合には、下記の事項を除き、あらかじめ理事会において理事の総数（理事現在数）の3分の2以上の承認を得なければならない。

- (1) 配当の受領
- (2) 無償新株式の受領
- (3) 株主割当増資への応募
- (4) 株主宛配付書類の受領

(実施細則)

第65条 法令及びこの定款に定めるもののほか、この法人の運営に必要な事項は、理事会の決議により理事長が別に定める。

附 則

1 この定款は、一般社団法人及び一般財団法人に関する法律及び公益社団法人及び公益財団法人の認定等に関する法律の施行に伴う関係法律の整備等に関する法律第106条第1項に定める公益法人の設立の登記の日から施行する。

2 一般社団法人及び一般財団法人に関する法律及び公益社団法人及び公益財団法人の認定等に関する法律の施行に伴う関係法律の整備等に関する法律第106条第1項に定める特例民法法人の解散の登記と、公益法人の設立の登記を行なったときは、第5条の規定にかかわらず、解散の登記の日の前日を事業年度の末日とし、設立の登記の日を事業年度の開始日とする。

3 この法人の最初の理事長は、次に掲げる者とする。

理事長 小谷裕司 とする。

4 この法人の最初の評議員は、次に掲げる者とする。

本水 昌二 杉尾 剛 波田 善夫 西垣 誠 阿部 宏史

鳥越 良光 岩田 正晴 谷本 俊夫 藤井 勉

5. 平成 26 年度事業実施状況

平成 26 年度の助成事業は、環境研究助成、国際研究交流助成、研究集会助成の公募を行い、総額 712 万円の助成を実施した。

当年度における公募の概要は次のとおりである。

募集の目的

当法人は、環境科学に関する調査研究の推進や創造性豊かな研究者の養成を支援することによって、岡山県における学術及び技術開発の進展に寄与することを目的とし、次に掲げる助成事業を行います。

I. 環境研究助成

	一般研究	特定研究
1. 助成対象研究	テーマは設定しません 自然科学と社会科学の両分野の研究で自然環境の改善（環境科学）に寄与するものとしします。	平成 26 年度募集テーマ A. 災害と地域の環境に関する研究 B. 環境保全に関する研究（新テーマ） C. 地域活性化に関する研究
2. 助成金額と件数	総 額 ・ ・ ・ ・ ・ 400 万円程度 1 件あたり助成額 ・ ・ 50 万円以内 助成件数 ・ ・ ・ ・ ・ 8 件程度	総 額 ・ ・ ・ ・ ・ 200 万円程度 1 件あたり助成額 ・ ・ 100 万円以内 助成件数 ・ ・ ・ ・ ・ 2 件程度
3. 助成対象となる期間	平成 27 年 3 月 31 日まで	平成 27 年 3 月 31 日まで

4. 助成対象となる費用

研究に直接必要な経費を助成します。汎用性のある機器（パソコン、ファクシミリ、コピー機、携帯電話、カメラ等）の購入費は助成対象外とします。

5. 助成対象者の義務等

下記の事項について財団所定の「合意書」を締結し、履行していただきます。

- 助成期間終了後 3 ヶ月以内に研究レポート（1 頁 2,000 字、A 4 で 6 頁程度）の提出
- 平成 27 年 11 月頃に開催予定の財団主催の研究報告会にて研究成果の発表
- 財団所定の「報告書（経費使用明細書含む）」の提出
- 対外的に研究成果を発表する場合には、当財団の援助を受けたことを明示
- 研究を中止又は延期した場合はその理由書と経費使用明細書の提出及び助成金の精算

6. 選考基準

- 当財団が助成するにふさわしい研究
- 学術的・社会的要請が高く将来性豊かな研究
- 独創性・先駆性に優れた研究

Ⅱ. 国際研究交流助成

1. 助成対象

平成 26 年 6 月 1 日から平成 27 年 5 月 31 日までに出発帰着する下記の派遣又は招聘

- 国内外で開催される環境科学に関する国際研究集会での発表、又は共同研究を目的とした、海外研究者の招聘。

2. 助成金額と件数

- 総 額 ・ ・ ・ ・ ・ 60 万円程度
- 1 件当たり助成金 ・ ・ 20 万円以内
- 助成件数 ・ ・ ・ ・ ・ 3 件程度

3. 助成対象となる費用

派遣又は招聘に必要な渡航費及び滞在費並びに研究集会参加費

4. 助成対象者の義務等

- 公開講演会又は研究発表会にて発表をお願いする場合があります。この場合謝金はお支払できません。
- 派遣又は招聘完了後 1 ヶ月以内に財団所定「報告書」の提出。
- 渡航又は招聘を中止若しくは延期した場合、その理由書の提出と助成金の精算
- 研究集会等での発表を目的とする場合、研究発表後 1 ヶ月以内に発表論文と応募者が発表者であることが証明できるものを提出すること。

Ⅲ. 研究集会助成

1. 助成対象

- 平成 26 年 10 月 1 日から平成 28 年 3 月 31 日までに岡山県内で開催される、環境科学に関する研究集会、学術講演会、シンポジウム等
- ・第 1 回募集（今回募集）：1～2 件
- ・第 2 回募集（平成 26 年 10 月頃募集予定）1 件程度

2. 助成金額と件数

- 総 額 ・ ・ ・ ・ ・ 90 万円程度
- 1 件当たり助成金 ・ ・ 30 万円以内
- 助成件数 ・ ・ ・ ・ ・ 3 件程度

3. 助成対象となる費用

研究集会等の開催に要する会場費、印刷費、通信運搬費等の費用

4. 助成対象者の義務等

- 研究集会等の開催が、当財団の助成を受けている旨の明示
- 研究集会等終了後 1 ヶ月以内に財団所定「報告書」および財団から助成を受けたことを示すもの（ポスター、HP、チラシ等）の提出。
- 開催を中止又は延期した場合、その理由書の提出と助成金の精算

応募手続き

1. 応募資格

- 環境科学との関連性がないものについての助成は認めません。申請書所定欄に環境科学との関連性について記述して下さい。
- 岡山県内の大学等の研究機関に所属する研究者（博士課程（後期）の大学院生を含む）。
- 研究機関の長又は学長若しくは学部長等の推薦を受け、申請書所定欄に記入して下さい。大学院生はそれに加えて、指導教官からの推薦状（様式自由）を添付して下さい。
- 環境研究助成、国際研究交流助成、研究集会助成に重複して応募はできますが、それぞれ1件までとします。また重複して応募された場合でも、助成対象となるのは1人又は1グループにつき最大1件とします。
- 平成25年度に助成対象者となった研究者（共同研究者を含む）は、平成26年度は同一の助成部門（「環境研究助成の特定研究部門」、「環境研究助成の一般研究部門」、「国際研究交流助成部門」、「研究集会助成部門」）に再応募することはできません。
- 国際研究交流助成において、研究集会等での発表を目的とする場合、応募者が発表者であることを要件とします。また、論文採択が予定の段階でも応募できますが、選定された場合の助成金の振込は、採択後とします。申請時において決定している場合は、「論文採択通知」等の写しを申請書に添付して下さい。

2. 募集期間と選考手続

	応募締切	最終決定	結果通知
I. 環境研究助成	平成26年 4月10日（木）（必着）	平成26年 5月下旬	申請者及び推薦者に採否、助成金額及び交付期日と方法を通知いたします
II. 国際研究交流助成			
III. 研究集会助成			

※ 書類に不備があった場合、選定されない場合があります。

3. 申請書類

応募申請書様式は、各大学等の事務室等に配布しています。
 または、当財団のホームページからダウンロードして下さい。
 申請書の様式は変更しないでください。

<http://www.ej-hds.co.jp/zaidan/>

応募申請書類は、下記の財団事務局にご送付下さい。

応募申請書類送付先・問い合わせ先

〒700-8617 岡山市北区津島京町3丁目1番21号
 (株) エイト日本技術開発 管理本部内
 公益財団法人 八雲環境科学振興財団 事務局
 TEL: 086-252-7670
 FAX: 086-252-8918
 Eメール: yakumo@ej-hds.co.jp

6. 年度別助成事業実施状況

平成 10 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
国際研究交流助成事業	7 件	7 件	1,357 千円
合 計	7 件	7 件	1,357 千円

平成 10 年度は、環境研究助成事業は実施いたしませんでした。

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
国際研究交流助成事業	岡山大学	5 件
	岡山県立大学	1 件
	岡山商科大学	1 件

平成 11 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	24 件	11 件	5,886.3 千円
国際研究交流助成事業	13 件	10 件	1,938.2 千円
合 計	37 件	21 件	7,824.5 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	7 件
	岡山理科大学	2 件
	岡山商科大学	1 件
	津山工業高等専門学校	1 件
国際研究交流助成事業	岡山県工業技術センター	1 件
	岡山大学	5 件
	岡山県立大学	3 件
	岡山理科大学	1 件

平成 12 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	20 件	13 件	6,620 千円
国際研究交流助成事業	9 件	8 件	1,517 千円
合 計	29 件	21 件	8,137 千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	5 件
	岡山理科大学	4 件
	岡山商科大学	1 件
	川崎医科大学	1 件
	津山工業高等専門学校	2 件
国際研究交流助成事業	岡山県工業技術センター	1 件
	岡山大学	7 件

平成 13 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	14件	12件	6,370千円
国際研究交流助成事業	16件	12件	2,350千円
合計	30件	24件	8,720千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	7件
	岡山県立大学	1件
	川崎医科大学	1件
	倉敷芸術科学大学	2件
	津山工業高等専門学校	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	7件
	岡山県立大学	2件
	岡山理科大学	1件
	津山工業高等専門学校	1件
	財団法人淳風会	1件

平成 14 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	27件	12件	7,200千円
国際研究交流助成事業	10件	7件	1,400千円
研究集会助成事業	2件	1件	300千円
合計	39件	20件	8,900千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	7件
	岡山理科大学	3件
	岡山商科大学	1件
	川崎医科大学	1件
国際研究交流助成事業	岡山県工業技術センター	1件
	岡山大学	4件
	岡山理科大学	1件
	津山工業高等専門学校	1件
研究集会助成事業	岡山大学	1件

平成 15 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	28件	13件	6,900千円
国際研究交流助成事業	9件	3件	600千円
研究集会助成事業	2件	2件	600千円
合計	39件	18件	8,100千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	5件
	岡山理科大学	3件
	岡山県立大学	1件
	倉敷技術科学大学	2件
	吉備国際大学	1件
	津山工業高等専門学校	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	3件
研究集会助成事業	岡山大学	2件

平成 16 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	42件	12件	6,800千円
国際研究交流助成事業	12件	4件	800千円
研究集会助成事業	4件	4件	1,200千円
合計	58件	20件	8,800千円

※ 研究集会助成事業は平成 17 年度開催 採択 2 件を含む。

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	7件
	岡山理科大学	2件
	岡山商科大学	1件
	美作大学	1件
	就実大学	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	2件
	岡山県立大学	1件
	岡山県工業技術センター	1件
研究集会助成事業	岡山大学	3件
	岡山理科大学	1件

平成 17 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	34件	13件	6,860千円
国際研究交流助成事業	10件	5件	1,000千円
研究集会助成事業	1件	1件	300千円
合計	45件	19件	8,160千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	8件
	岡山理科大学	3件
	岡山商科大学	1件
	美作大学	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	1件
	岡山理科大学	1件
	岡山県立大学	1件
	岡山県工業技術センター	1件
	津山工業高等専門学校	1件
研究集会助成事業	川崎医科大学	1件

平成 18 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	37件	14件	8,250千円
国際研究交流助成事業	8件	4件	760千円
研究集会助成事業	1件	1件	300千円
合計	46件	19件	9,310千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	9件
	岡山理科大学	2件
	岡山県立大学	1件
	吉備国際大学	1件
	津山工業高等専門学校	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	3件
	岡山商科大学	1件
研究集会助成事業	岡山大学	1件

平成 19 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	25件	14件	7,250千円
国際研究交流助成事業	3件	2件	400千円
研究集会助成事業	1件	1件	300千円
合計	29件	17件	7,950千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	9件
	岡山理科大学	3件
	吉備国際大学	2件
国際研究交流助成事業	岡山大学	2件
研究集会助成事業	岡山大学	1件

平成 20 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	34件	13件	7,290千円
国際研究交流助成事業	9件	4件	800千円
研究集会助成事業	1件	1件	300千円
合計	44件	18件	8,390千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	7件
	岡山理科大学	3件
	岡山県立大学	1件
	吉備国際大学	1件
	倉敷芸術科学大学	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	3件
	岡山理科大学	1件
研究集会助成事業	川崎医科大学	1件

平成 21 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	26件	13件	7,090千円
国際研究交流助成事業	6件	2件	400千円
研究集会助成事業	1件	1件	150千円
合計	33件	16件	7,640千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	5件
	岡山理科大学	2件
	岡山県立大学	1件
	吉備国際大学	2件
	津山工業高等専門学校	2件
	くらしき作陽大学	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	1件
	岡山県工業技術センター	1件
研究集会助成事業	岡山理科大学	1件

平成 22 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	39件	12件	7,360千円
国際研究交流助成事業	3件	3件	600千円
研究集会助成事業	3件	2件	530千円
合計	45件	17件	8,490千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	9件
	岡山商科大学	1件
	津山工業高等専門学校	1件
	川崎医療福祉大学	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	3件
研究集会助成事業	岡山大学	1件
	岡山理科大学	1件

平成 23 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	29件	11件	6,890千円
国際研究交流助成事業	7件	5件	1,400千円
研究集会助成事業	2件	2件	600千円
合計	38件	18件	8,890千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	5件
	岡山理科大学	1件
	岡山県立大学	1件
	津山工業高等専門学校	2件
	就実大学	1件
	岡山農林水産総合センター 生物科学研究所	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	3件
	岡山理科大学	2件
研究集会助成事業	岡山大学	1件
	川崎医科大学	1件

平成 24 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	28件	12件	6,917千円
国際研究交流助成事業	5件	4件	744千円
研究集会助成事業	2件	2件	600千円
合計	35件	18件	8,261千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	5件
	岡山理科大学	2件
	岡山県立大学	1件
	津山工業高等専門学校	2件
	倉敷芸術科学大学	1件
	岡山農林水産総合センター 生物科学研究所	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	3件
	岡山県工業技術センター	1件
研究集会助成事業	岡山理科大学	2件

平成 25 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	19件	10件	4,738千円
国際研究交流助成事業	2件	2件	400千円
研究集会助成事業	2件	3件	800千円
合計	23件	15件	5,938千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	4件
	岡山理科大学	4件
	山陽学園大学	1件
	倉敷芸術科学大学	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	2件
研究集会助成事業	岡山大学	1件
	就実大学	1件
	岡山理科大学	1件

平成 26 年度

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	20件	10件	5,446千円
国際研究交流助成事業	5件	4件	775千円
研究集会助成事業	4件	3件	900千円
合計	29件	17件	7,121千円

○所属機関別助成実績

	所属機関	助成件数
環境研究助成事業	岡山大学	6件
	岡山理科大学	2件
	津山工業高等専門学校	1件
	就実大学	1件
国際研究交流助成事業	岡山大学	2件
	岡山理科大学	1件
	岡山県立大学	1件
研究集会助成事業	岡山大学	3件

累計（平成10年度～平成26年度）

	応募件数	助成件数	助成金額
環境研究助成事業	446件	195件	107,868千円
国際研究交流助成事業	134件	86件	17,241千円
研究集会助成事業	24件	24件	6,880千円
合計	604件	305件	131,989千円

7. 研究発表会実施状況

平成12年度

開催日時	平成12年9月29日(金) 13時～
場 所	岡山ロイヤルホテル
発表者数	8名
協 賛	株式会社エイトコンサルタント
出席者	約50名

平成13年度

開催日時	平成13年11月6日(火) 13時～
場 所	岡山ロイヤルホテル
発表者数	10名
協 賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント
出席者	約60名

平成14年度

開催日時	平成14年11月8日(金) 13時～
場 所	リーセントカルチャーホテル
発表者数	12名
協 賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約60名

平成15年度

開催日時	平成15年11月6日(木) 13時～
場 所	リーセントカルチャーホテル
発表者数	12名
協 賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約60名

平成16年度

開催日時	平成16年11月4日(木) 13時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	13名
協 賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約50名

平成 17 年度

開催日時	平成17年10月26日(水) 13時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	12名
協 賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約80名

平成 18 年度

開催日時	平成18年11月1日(水) 12時30分～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	14名
協 賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ 岡山旭ライオンズクラブ 岡山吉備ライオンズクラブ 岡山ブルーライオンズクラブ
出席者	約100名

平成 19 年度

開催日時	平成19年11月12日(月) 12時30分～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	14名
協 賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約80名

平成 20 年度

開催日時	平成20年11月4日(火) 13時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	12名
協 賛	岡山県教育委員会 株式会社エイトコンサルタント 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約50名

平成 21 年度

開催日時	平成 21 年 10 月 30 日 (金) 12 時 50 分～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	13 名
協 賛	岡山県教育委員会 株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約 50 名

平成 22 年度

開催日時	平成 22 年 11 月 1 日 (月) 12 時 50 分～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	13 名
協 賛	岡山県教育委員会 株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約 50 名

平成 23 年度

開催日時	平成 23 年 10 月 25 日 (火) 13 時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	12 名
協 賛	岡山県教育委員会 株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約 50 名

平成 24 年度

開催日時	平成 24 年 10 月 5 日 (金) 13 時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	12 名
協 賛	株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約 60 名

平成 25 年度

開催日時	平成 25 年 11 月 14 日 (木) 13 時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	12 名
協 賛	株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約 60 名

平成 26 年度

開催日時	平成26年10月28日(火) 13時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	11名
協 賛	株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ
出席者	約60名

平成 27 年度 (予定)

開催日時	平成27年11月2日(月) 13時～
場 所	岡山大学創立五十周年記念館
発表者数	10名
協 賛	株式会社エイト日本技術開発 岡山グリーンライオンズクラブ

平成 26 年度 環境研究助成報告

8. 平成 26 年度 環境研究助成報告

① 特定研究

助成対象者	所 属	研究テーマ	ページ
佐藤 丈晴	岡山理科大学 生物地球学部	南海トラフ巨大地震を想定した土砂災害危険度評価手法の改善	30

② 一般研究

助成対象者	所 属	研究テーマ	ページ
今村 維克	岡山大学大学院 自然科学研究科	金属製装置表面の電位制御による食品由来タンパク質汚れの低減	36
杉本 学	岡山大学資源植物科学 研究所	紫外線UV-Cによる植物DNA酸化傷害の修復機能に関する研究	45
押谷 潤	岡山大学大学院 自然科学研究科	乾式粉体流動に基づく粒状廃棄物分離技術の開発	51
武安 伸幸	岡山大学大学院 自然科学研究科	表面増強ラマン分光法による揮発性有機化合物の分析	57
武山 智博	岡山理科大学 生物地球学部	魚類群集を指標生物とした河川の水環境の評価	63
有元 佐賀恵	岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科	大気環境汚染物質の太陽光曝露による新規遺伝毒性・発癌性	71
鳥家 秀昭	津山工業高等専門学校 電気制御工学科	有害野生動物の複数頭捕獲檻のゲート閉鎖装置の開発	81
工藤 季之	就実大学 薬学部薬学科	鳥類における性ホルモン関連遺伝子のエピジェネティック解析	87
園田 昌司	岡山大学資源植物科学 研究所	セイタカアワダチソウの広域的出現が天敵昆虫の生態と生物機能に及ぼす影響の解析	93

南海トラフ巨大地震を想定した土砂災害危険度評価手法の改善

岡山理科大学 佐藤 丈晴

1. はじめに

東北地方太平洋沖地震が発生して以降、南海トラフ巨大地震に対してあらゆるインフラで対応策が講じられている。土砂災害に関しても様々な検討が実施されている。損害保険料率算出機構¹⁾では、斜面崩壊危険度評価手法について①統計的手法（過去に起きた崩壊例に基づく統計的手法）と②工学的手法（斜面安定解析や FEM 解析等の数値計算による手法）と③その他（ファジイ理論、AHP 法などのエキスパートシステム等）に分類し、①及び②について比較検討している。そして、収集した評価事例より、全国への適用性、DEM の活用性、適用事例の多さなどから上記①②の代表例として次の3手法を選定し、モデル地震による試行計算により手法の検討を行った。

- (1) 中央防災会議の手法²⁾（斜面単位）
- (2) 内田他の手法³⁾（10m メッシュ単位）
- (3) 秦他の手法⁴⁾（15m メッシュ単位）

結果として損害保険料率算出機構¹⁾では、全国を評価するという目的のため計算量を考慮して(1)の方法を用いて新たなモデルを提案している。

これに対して、本検討では(2)案を採用した。急傾斜地カルテを用いた手法である(1)では、すべての斜面に対して検討できないこと、(3)は数値計算のパラメータ設定によって評価が異なるため、広域な対象を評価するのは難しいと判断した。ただし、(2)案で提案された評価式は、平成7年の兵庫県南部地震の崩壊事例を基に設定された式であり、今後想定される南海トラフ巨大地震のようなプレート型地震とは、地震の特性が大きく異なっている。

本研究では、東北地方太平洋沖地震を誘因として発生した土砂災害について、10mDEMを用いてその斜面特性を評価した。また、地震加速度については、東北地方太平洋沖地震時に計測された防災科学研究所で公開されている。これらのデータを用いて、東北地方太平洋沖地震発生時の斜面崩壊の特性を評価し、その評価式を用いて岡山県南部地域における南海トラフ巨大地震発生時の斜面危険度を評価した。

2. 採用した基礎データと検討手法

内田他(2004)³⁾では、10mDEMを用いて傾斜度、平均曲率、最大加速度を計算する。そして、式(1)に示す評価式に代入して急傾斜地崩壊危険箇所ごとの危険度 F を算定している。

$$F=0.075 \times [\text{傾斜度}(\text{°})] \cdot 8.9 [\text{平均曲率}] + 0.0056 \times [\text{最大加速度}(\text{cm/s}^2)] - 3.2 \dots (1)$$

F が大きくなるほど危険と判定される。

東日本大震災の被災事例研究より、傾斜量が急な箇所⁵⁾、斜面地形が凸状の箇所⁶⁾が災害発生の特徴と記されている。この評価式においても、危険度の評価に用いる要因として、傾斜量と曲率(地形の凹凸)が採用されており、DEMを用いた評価でき、かつ土砂災害発生に影響のある要因と考え説明変数として採用した。よって説明変数の係数を東日本大震災仕様に変えて岡山県南部地域に適用する方針を進めた。

まず、解析に用いるデータを説明する。傾斜度や平均曲率は、国土交通省基盤地図情報⁷⁾の10mDEMデータ(標高)を用いて、地形量を算定した。

傾斜度は、下式に基づいて算定した⁸⁾。数式中の $a \sim i$ については、図・3に示した。下式は、中央に位置するセル e の傾斜度の算定式である。

a	b	c
d	e	f
g	h	i

図-1 グリッド e 周辺のグリッドの名称

(傾斜度) = $\text{atan}(\alpha) \times 57.29578$

$$\alpha = \sqrt{\left(\frac{dz}{dx}\right)^2 + \left(\frac{dz}{dy}\right)^2}$$

$$\frac{dz}{dx} = \frac{\{(c + 2f + i) + (a + 2d + g)\}}{8 \times l(x)}$$

$$\frac{dz}{dy} = \frac{\{(g + 2h + i) + (a + 2b + c)\}}{8 \times l(y)}$$

$l(x)$: x方向のグリッドサイズ

$l(y)$: y方向のグリッドサイズ

続いて曲率について、傾斜度と同様に図-3 を用いて算定式を以下に示した⁸⁾。

$$(\text{曲率}) = -2(D + E) * 100$$

$$D = \left(\frac{d+f}{2} - e\right) / l(x)^2$$

$$E = \left(\frac{b+h}{2} - e\right) / l(y)^2$$

東北地方太平洋沖地震発生時の最大加速度については、防災科学研究所強震観測網(K-NET)⁹⁾よりデータを入手した。観測点ごとの最大加速度をKriging法によってグリiddingし、10mDEMごとの最大加速度を作成した。

以上別途に作成した3要因のデータについて位置情報をキーとして結合し、10mDEMデータに傾斜量、曲率、最大加速度のデータを結合したデータベースを作成する。しかしながら、前出の評価式は阪神淡路大震災の中でも六甲山系の限定的な地域での検討のため10mDEMデータ単位の検討も可能であるが、東日本大震災の全域を10mDEMとして評価するとデータ数が膨大となり、解析が困難となる。そこで、本研究では、二つの解析方針を立案し、それぞれの方法で検討を行い、危険度評価式の精度を基にして提案手法を決定した。評価式の良さを示す精度は、判別式の構築に用いた斜面のデータを用いる。災害発生斜面と非発生斜面を正確に評価した割合(以下正判別率と記す)を採用する。またデータのほとんどが非発生斜面であるので、災害発生斜面の正判別

率も判別式の精度の指標として用いる。

【解析条件1】斜面の代表点を危険度評価に用いる方法

国総研資料の急傾斜地評価と同様の方法で、主測線上の斜面の上端、中央、下端および災害発生資料で記載された位置座標の4点のDEMデータに基づいて評価し、最大危険度となった値を該当斜面の危険度と評価する方法。東日本大震災において被災した斜面¹⁰⁾とその隣接斜面を特定し、各斜面の主測線から該当する10mDEMを特定し分析に用いる要因を抽出した。具体的には、図-2のように急傾斜地のポリゴンデータを設定し、斜面縦断方向に主測線を設置して、星印で示した斜面上部の遷急線と斜面下部の遷緩線及びその中央点の座標のDEMデータを読み取った。検討に用いた斜面の総数は243斜面であり、そのうち発生斜面数は83斜面である。

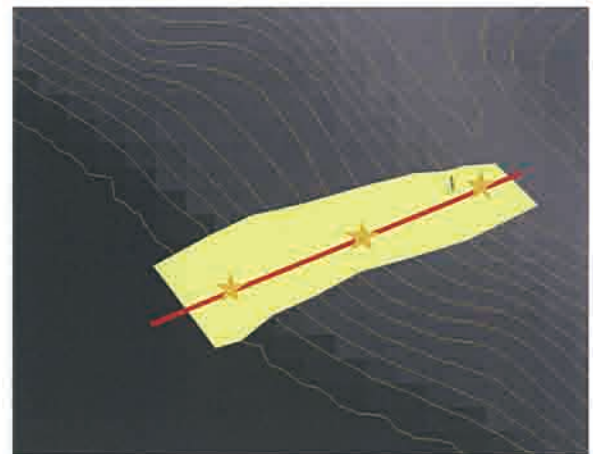


図-2 解析条件1におけるデータ収集方法

【解析条件2】東日本大震災における被災箇所を中心とした半径500m以内の10mDEMデータを採用し、斜面ごとではなく10mDEMごとの危険度を評価する方法。

災害発生箇所については解析条件1と同様、防災科学研究所で収集されたデータ¹⁰⁾を用いた。震災直後に複数の研究者が現地調査を行い、場所を特定したものである。

箇所から半径500m以内のエリアに絞ったのは、崩壊箇所を調査した技術者がその周辺地域も非発生であったことを確認できる領域と考えた。そこで、被災斜面をポリゴン化し、ポリゴンに含まれる10mDEMを発生データ、ポリゴンに含まれない領域の10mDEMを非発生データとして分類し、検討に用いた。データ総数は、579271データ(発

生 12119 データ、非発生 567152 データ) となった。

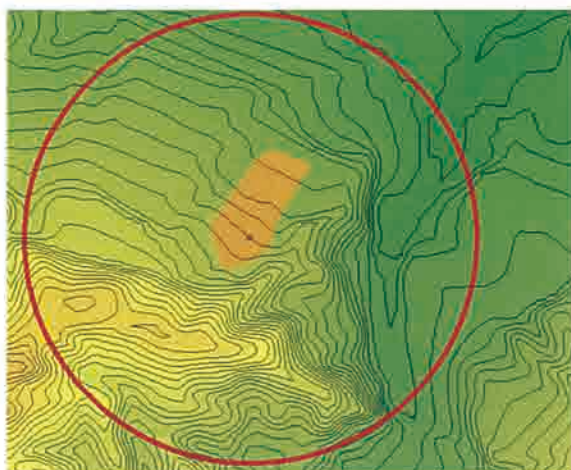


図-3 解析条件 1 におけるデータ収集方法

3. 解析結果と提案する危険度評価式

本研究では説明変数 3 要因（傾斜度、曲率、最大加速度）に対して目的変数（危険度）を評価することから重判別分析を採用し、得られる判別式を危険度評価式として用いた。変数選択の方法として変数増加法を用い、3 要因すべての説明変数を用いる条件とした。

解析条件 1 では、4 ケースのデータを作成してケースごとに解析を実施した。その結果の係数を表-1 に示した。表の a は傾斜度、 b は曲率、 c は最大加速度の係数を示し、 d は定数項である。表より、傾斜度、最大加速度の係数はいずれも正の値をとっており、矛盾はなかった。4 ケースのうち最も精度の高い判別式はケース 3 であったため、このケースを解析条件 1 の危険度評価式として採用した。危険度評価式を以下に示した。

$$y = 0.019x_1 - 0.011x_2 + 0.00052x_3 - 0.57 \dots (1)$$

x_1 : 傾斜度

x_2 : 曲率

x_3 : 最大加速度

どの部分の判別分析も正判別率が 50%程度で、土砂災害発生斜面と非発生斜面が精度よく分離されなかった。

(1)式では、土砂災害発生斜面の抽出率は 61.75%であった。他のケースにおいても同様に検討したが、ケース 3 の(1)式よりも精度は低かった。

以上より解析条件 1 においては、(1)式を危険度評価式として提案する。

表-1 解析手法 1 の結果

	a	b	c	d	正判別率(%)
(1)上部	0.032	-0.0077	0.00072	-0.86	52.3
(2)中部	0.006	0.0053	0.00036	-0.38	53.5
(3)下部	0.019	-0.011	0.00052	-0.57	53.9
(4)災害データ付近	0.013	0.0085	0.00047	-0.51	52.7

表中の a, b, c, d は、下式の多項式の係数を示す。

$$y = ax_1 + bx_2 + cx_3 + d$$

解析条件 2 でも同様に解析した結果、以下の判別式が求められた。正判別率は 59.80%、発生斜面における正判別率は 69.30%となり、解析条件 1 よりも 10%程度の正判別率を得ることができた。求められた危険度評価式は以下の通り。

$$y = 0.04x_1 + 0.008x_2 + 0.0018x_3 - 1.6 \dots (2)$$

x_1 : 傾斜度

x_2 : 曲率

x_3 : 最大加速度

本検討では、災害発生斜面および全斜面における正判別率がよく、かつ 10mDEM ごとに判別が可能な式(2)を危険度評価式として提案する。

4. 南海トラフ巨大地震に対する危険度評価

岡山県南部地域は南海トラフ巨大地震の影響を強く受ける地域であると中央防災会議¹¹⁾による検討結果より指摘されている。本検討では、岡山県南部地域でも特に土砂災害の発生頻度が多く、急傾斜地が市街地周辺に集中している岡山県玉野市を対象として、式(2)に基づき危険度評価を行った。

10mDEM データを用いて傾斜度と曲率は、第 2 章と同様に算定した。最大加速度については、南海トラフ巨大地震を経験していないため、実測値はない。そこで、今後想定される南海トラフ巨大地震を対象とした場合、内閣府の中央防災会議では、岡山県における定量的に算出された基盤震度¹²⁾を採用して揺れやすさや液状化範囲等、地震現象に基づく様々な検討が実施されている。中央防災会議で検討された複数のケースの中で、岡山県における揺れが最大になると想定される「陸側ケース」すなわち、特に強い地震波を放射する強震

動生成域が、想定震源域の中の最も陸側に形成される場合である(図-4)。このデータを採用することで、土砂災害の危険度評価においても、岡山県の地盤状況に応じた信頼度の高い評価ができると考えられる。

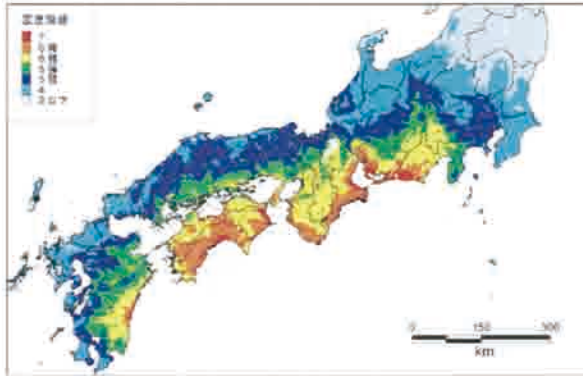


図-4 震度分布図(陸側ケース)

しかしながら、地表での地盤のゆれは表層のやわらかい地盤の影響で深部よりも大きくゆれると想定されている⁶⁾。地表でのゆれが深部(工学的基盤)でのゆれに対して大きくなる割合(計測震度増分)を考慮した結果が、図-4に示した震度分布図である。図-4は、岡山県に最も大きな影響を与える陸側ケースである。南部の干拓地及び低平地では、最大震度6弱の揺れが想定されている。

本研究では、内閣府の中央防災会議で示された工学的基盤震度に平均S波速度(AVS30)¹¹⁾の影響による震度増分を、横田他の式¹²⁾を用いて加算した。ここでAVS30は、ボーリング資料や微地形などから推定された深さ30mまでの平均S波速度である。岩盤露出斜面等AVS30mが計算できない場合は、工学的基盤震度をそのままを用いた。ここで得られた値から童、山崎の式を用いて最大加速度を算定した¹³⁾。

$$PGA = 10^{-0.23+0.51 \times la}$$

PGA: 最大加速度 la: 計測震度

なお上記算定に当たっては、1kmメッシュで与えられた工学的基盤震度から、岡山県全域で250mメッシュごとに内挿補完し、ボーリングデータ等の詳細な地盤情報に基づいた地表の加速度を算出した。

以上を基に岡山県玉野市について10mDEMデータを整理した。データ数は888796個となった。10mDEMの標高および傾斜度と曲率は、位置の座標によって結合してデータベースを構築した。

最大加速度データは250mメッシュごとに作成されていたため、10mDEMとなるように内挿補完を行い、前出の10mDEMデータベースに結合した。このデータベースに基づいてDEMデータごとに危険度を算定し、危険度マップを作成した。作成した図を下に示した。

図-5で危険度が高いと評価された急傾斜地のいくつかについて現地調査を実施した。山地部の周辺部や住宅地裏の急傾斜地に危険度が高い地域が集中している。斜面下の地盤の揺れが大きく急勾配となっている地域の危険度が高くなっていることが現地調査で感じられた。

5. 提案する危険度評価手法

今後想定される南海トラフ巨大地震時の土砂災害発生危険度は、式(2)を用いることで評価することができた。傾斜度、曲率は、10mDEMをそのまま用いることによって計算することが可能である。最大加速度については、内閣府中央防災会議の資料より震度分布が示されていることからこのデータを用いるのが一般的であり、本研究のように対象地域でさらに詳細な震度分布の検討が実施されているようであれば、そちらを用いるのが妥当である。内閣府中央防災会議では日本列島の大部分が検討されているため、影響の恐れのある地域のデータはこの資料を基にすれば対応が可能である。

6. まとめと今後の課題

本研究では、東日本大震災の被災事例を基に10mDEMデータを用いて傾斜度、曲率を算定し、地震に起因した災害発生の地形的特徴と地震の最大加速度から危険度評価式の算定を行った。この評価式を用いて、関東～西南日本において想定されている南海トラフ巨大地震に対して、現在想定されている揺れの大きさが発生した場合の土砂災害の危険度について評価することができた。

今後の課題として、災害発生データが限定されていること、災害発生箇所周辺の地形データのみでの検討となっていること、最大加速度のデータがK-NETのデータを基としており、観測所との距離が離れていながらも内挿補完に頼って10mDEMデータを作成していることなどが挙げられる。さらに詳細なデータが収集できればより精度の高い危険度評価式の算定が可能になると思われる。

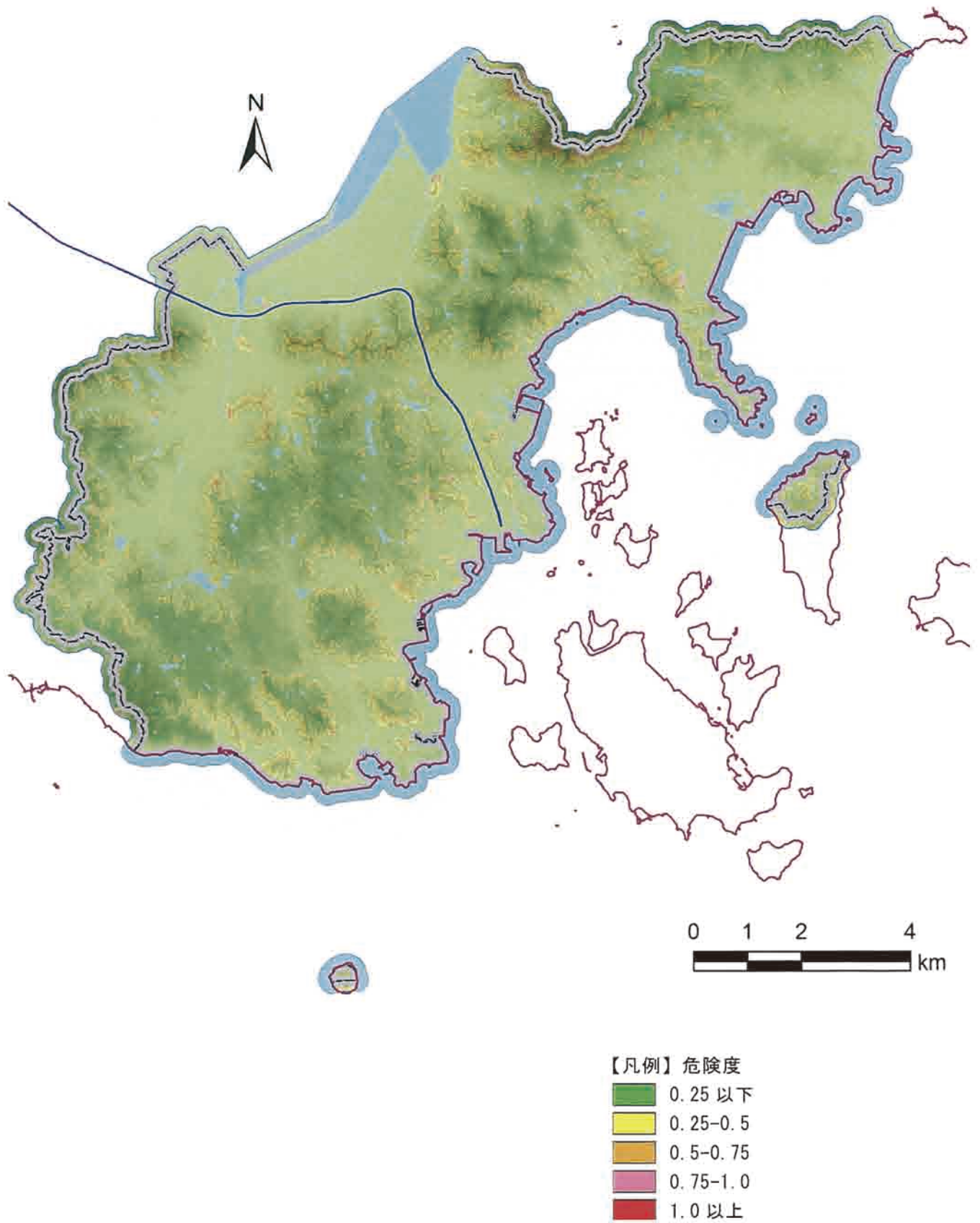


図-5 岡山県玉野市における南海トラフ巨大地震発生時における土砂災害危険度マップ

<謝辞>本研究を遂行するうえで、八雲環境科学振興財団には多大なる援助を頂いた。ここに記して感謝いたします。

<引用文献>

- 1) 損害保険料率算出機構：全国を対象とした地震時の斜面崩壊危険度評価手法に関する研究，pp108，2012.3
- 2) 中央防災会議：南海トラフ巨大地震の被害想定について（第二次報告）～ 施設等の被害 ～ 【定量的な被害量】2013.3
- 3) 内田太郎，片岡正次郎，岩男忠明，松尾修，寺田秀樹，中野泰雄，杉浦信男，小山内信智：地震による斜面崩壊危険度評価手法に関する研究，国土技術政策総合研究所資料 No204，2004.11
- 4) 秦吉弥・森田格・倉岡千郎・木下慎逸(2007) ASTER DEM を用いた地震時の斜面崩壊危険度評価，こうえいフォーラム，No.16，pp.77-83
- 5) 千葉紀行，檜垣大助，宮城豊彦，佐藤剛：東北地方太平洋沖地震による南岸の崩壊の特徴，第51回日本地すべり学会研究発表会講演集，pp204，2012.8
- 6) 武士俊也，石田孝司，杉本宏之，阿部大志，宇都忠和，坂野弘太郎，本間宏樹：平成23年東北太平洋沖地震によって福島県白河市で発生した地すべりの地形・地質的特徴，第51回日本地すべり学会研究発表会講演集，pp185，2012.8
- 7) 国土地理院：基盤地図情報サイト <http://www.gsi.go.jp/kiban/>
- 8) ArcGIS10.2 ヘルプページ
- 9) 防災科学技術研究所強振観測網(K-net) <http://www.kyoshin.bosai.go.jp/kyoshin/quick/>
- 10) 防災科学技術研究所(2011):土砂災害リストの作成. [<http://lsweb1.ess.bosai.go.jp/disaster/tohokukantoeq2011-w02/tohokukantoeq2011-w02.html>]
- 11) 南海トラフの巨大地震モデル検討会：第15回会合【定量的な被害量】 AVS30 と震度増分について 2012.3
- 12) 横田崇，稲垣賢亮，増田徹(2005)：数値実験による地盤特性と増幅率の関係，日本地震学会講演予稿集(2005年度秋季大会)，B064，86
- 13) 童華南，山崎文雄：地震動強さと新しい気象庁震度との対応関係 生産研究

金属製装置表面の電位制御による食品由来タンパク質汚れの低減

Reduction of food-originated proteinaceous soilings on metal equipment wall surface by control of surface electric potential

岡山大学大学院自然科学研究科化学生命工学専攻

今村 維克

1. はじめに

タンパク質は主要な食品素材・原料の一つであり、食品製造・加工プロセスにおいて加工装置や器具表面にタンパク質を主成分とする『タンパク質汚れ』を形成しやすい。この『タンパク質汚れ』が製造装置内に残留すると、製造装置の機能を低下させるだけでなく、製品への異物（汚れ物質）の混入や雑菌の繁殖により製品品質を致命的に低下させる。そのため、製造装置の洗浄は食品製造プロセス、においては不可欠な操作である。しかし、タンパク質の多くはステンレスなどの金属表面に対して高い吸着性を有しているため、その除去は容易ではない。実際には、高温に熱したアルカリ水や莫大な洗浄剤と時間を要して、やっと、タンパク質の吸着残留量を検出限界以下まで下げているのが現状である。ここで、洗浄に要する洗剤および水量（さらに水を加熱する熱量）は、汚れの付着量とともに増加する。従って、そもそもタンパク質汚れの発生を抑制することができれば、洗浄に要するエミッションは格段に低減できる。しかし、食品は製品設計の段階で成分や pH が規定されてしまうため、タンパク質汚れの抑制を目的とした成分や pH の調整は不可能である。これに対し、タンパク質の金属表面に対する吸着機構については、これまで多くの研究がなされ、その結果、強固（不可逆的）なタンパク質吸着には金属表面とタンパク質の間の電気的な力が大きく寄与していることが明らかとなった[1,2]。従って、製造装置表面の表面電位はタンパク質の吸着性に少なからぬ影響を及ぼすと考えられる。ここで、装置表面の表面電位は食品成分の組成や pH に影響を及ぼすことなく制御することができ、また、電流が発生しない電位域であれば、電力の消費は考えなくて良い。そこで、本研究では、(i)タンパク質の金属表面に対する吸着特性と印加電位の関係について検討した。吸着表面としてはステンレスを主に用い、タンパク質としては分子サイズおよび荷電状態がことなる 10 種類以上を用いた。次に(ii)代表的な吸着特性を示すタンパク質を取り上げて、吸着表面（材質）が吸着量～電位の関係に及ぼす影響について検討した。

2. 方法

実験材料

吸着金属表面として、主に SUS316L (50x30x2 mm) 製基板を用いた。さらに表面材質がタンパク質の吸着挙動～表面電位の関係に及ぼす影響を調べるため、クロム (50x30x2)、チタン、ニッケル、タンタル、ジルコニウム (50x30x2 mm) を用いた。全ての試料基板表面はフルウチ化学(株)製で片面鏡面研磨が施された。試料平板は (タンパク質吸着) 実験に用いる前に、0.1 M NaOH 中、121°C (オートクレーブ使用) で洗浄を行った[3,4]。また、タンパク質吸着実験に用いた試料平板は H₂O₂-電気分解洗浄[5]により再生し、繰り返しに実験

に使用した。

タンパク質としては以下の 12 種類を用いた。

Table 1 実験に使用したタンパク質

タンパク質	分子量($\times 10^3$)	等電点	製造会社	由来
Pepsin	34	<1	Sigma	ブタ胃
Ovalbumin	45	4.6	Sigma	ニワトリ卵白
Bovine Serum Albmin	66	4.7-4.9	Sigma Aldrich	ウシ血清
β -Lactoglobulin	18.4	5.1	Sigma	ウシ乳
Carbonic Anhydrase	30	5.3-5.9	Sigma Aldrich	ウシ赤血球
Conalbumin	77-87	6.0-6.8	Sigma Aldrich	ニワトリ卵白
IgG	150-155	5.8-7.3	Sigma Aldrich	ヒツジ血清
Lactoferrin	75-78	7.8	Sigma Aldrich	ウシ乳
Trypsinogen	24	9.3	Sigma Aldrich	ウシ膵臓
α -Chymotrypsinogen	25.7	9.5	Sigma Aldrich	ウシ膵臓
Trypsin	23	10.1-10.8	Sigma Aldrich	ウシ膵臓
Lysozyme	14.3	11.0-11.4	Sigma Aldrich	ニワトリ卵白
Protamine	4	12	Sigma Aldrich	サケ

本実験で用いた試薬は全て reagent grade であり、使用に際し、再精製は行わなかった。

金属表面へのタンパク質の吸着

タンパク質の試料平板への吸着は次のようにして行った[6,7]。まず、エリプソメータに設置した電解槽(Fig. 1)を 10 mM KCl で満たし (550 mL), 試料平板を電解槽に設置する。このとき試料平板の向きおよび位置はレーザーの入射角が 60° , 20 mM KCl 水溶液との接触面積が 12.5 cm^2 になるように調整した。試料平板にはポテンショスタット (北斗電工 (株), HSV-100) を用いて所定の電位 ($-0.8 \sim +0.4 \text{ V vs Ag/AgCl}$) を印加した。このとき対極および参照電極としてそれぞれ白金電極と Ag/AgCl 電極を用いた。次に予めタンパク質の粉末試料

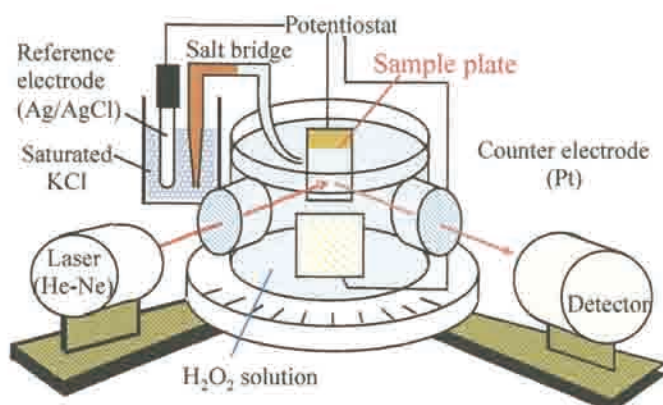


Fig. 1 Apparatus for measuring protein adsorption process (ellipsometer equipped with a protein adsorption cell) (laser wavelength: 633 nm, irradiated angle: 60°)

料を 20 mM KCl 水溶液で希釈して調製したタンパク質水溶液 (数 mg/mL) をタンパク質の終濃度が $10 \mu\text{g/mL}$ となるように電解槽に添加し、試料平板へのタンパク質の吸着を開始した。タンパク質水溶液の添加と同時にハンドスターラーで 10 秒

間溶液を攪拌した。吸着量の増加はタンパク質吸着層の厚みを指標としてエリプソメータ（溝尻光学工業所，DVA-36LDS）で経時的に測定した。すなわち，632 nm（He-Ne ランプ）の直線偏光を試料平板に入射角 60°で照射し，その反射光を回転式検光子で受光・解析した。

3. 結果と考察

3. 1. タンパク質の種類が吸着過程-表面電位の関係に及ぼす影響

所定の電位を印加した試料平板（ステンレス SUS316L）をタンパク質（ β -Lg）水溶液に浸したときのタンパク質の吸着過程の一例を Fig. 2 に示す。タンパク質の吸着過程は，通常，(i)吸着量の到達値と(ii)初期の急激な吸着量の増加（勾配）によって記述できる。そこで，印加電位が吸着挙動に与える影響を，それら二つの観点から比較した。

Fig. 3 に種々のタンパク質の吸着過程から最大吸着量（厚み）を読み出し，印加電

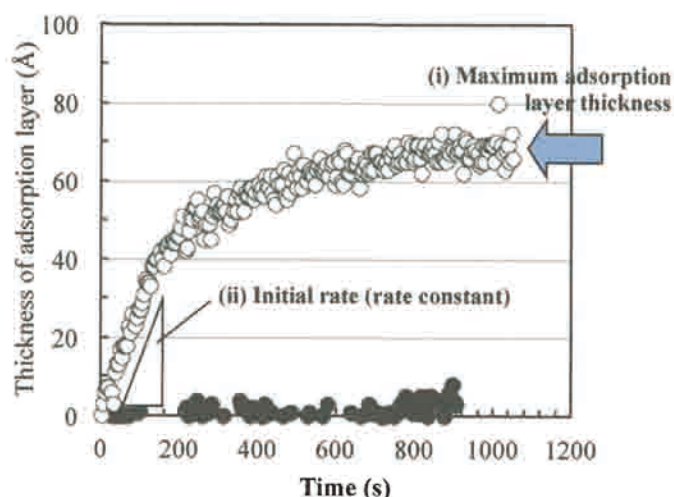


Fig. 2 Protein adsorption processes onto stainless steel surface (SUS316L), applied with +0.2 V (open keys) and +0.2 V vs Ag/AgCl (closed keys)
 Protien: β -lactoglobulin (10 μ g/ml), electrolyte: KCl (20 mM), temperature: 25 \pm 2 $^{\circ}$ C

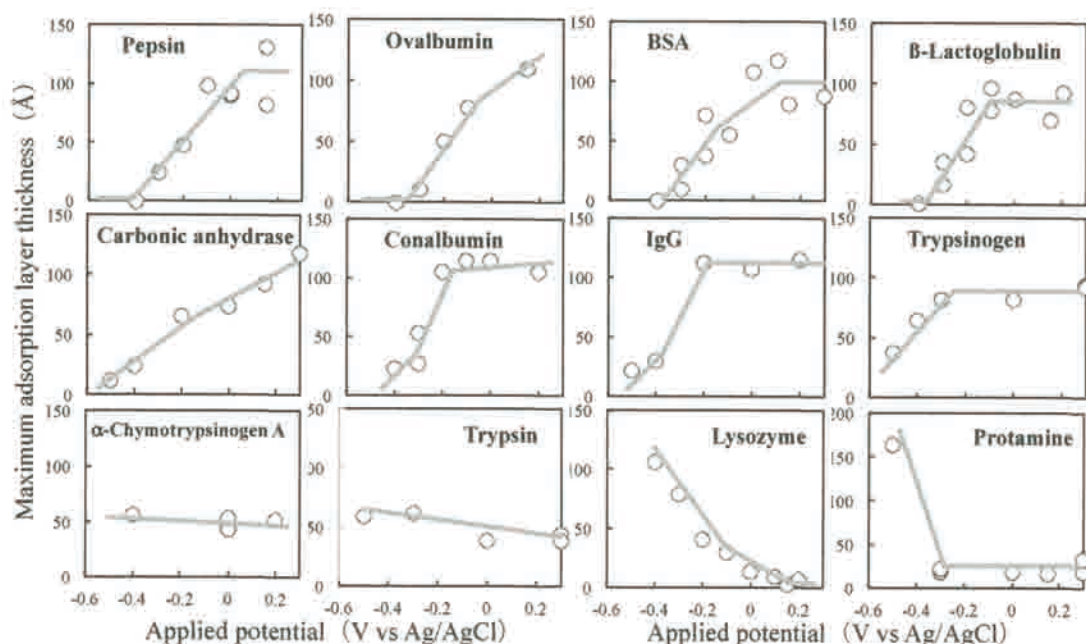


Fig. 3 Adsorption layer thickness on stainless steel (SUS316L) surface for different proteins, as a function of applied electric potential
 Protein concentration: 10 μ g/mL, electrolyte: KCl (20 mM), temperature: 25 \pm 2 $^{\circ}$ C

位に対してプロットしたものである。これより、タンパク質吸着量と印加電位の関係にタンパク質の種類によって、①印加電位がプラスになるほど最大吸着量が増加するもの、②本実験の条件範囲では最大吸着量が印加電位によらず一定の値を示すもの、③印加電位がプラスになるほど吸着量が減少するものに大別できることがわかった。この内、①と③のタンパク質は、それぞれ負電位側および正電位側にタンパク質吸着が認められない電位域（非吸着電位域）が存在することがわかった。

上記、①～③のグループのタンパク質の特性を比較すると、①の傾向を示すタンパク質は全て等電点が酸性～弱塩基性のタンパク質であり、③の傾向を示すタンパク質は強い塩基性であり、②のタンパク質は①および②のタンパク質の中間的な塩基性であった。このことから、タンパク質の等電点（酸性アミノ酸残基および塩基性アミノ酸残基の含有比率）と吸着量の電位依存性の関係は次のように考えることができる：タンパク質の吸着に静電的な相互作用が大きく関与しているとする、どんなタンパク質も表面電位が極端にプラスあるいわマイナスのときには反発が顕著になり、吸着が生じなくなるはずである（Fig. 4）。ここで、タンパク質が酸性アミノ酸残基を多数有する（等電点が低い）場合、付着表面の負電位が比較的弱くてもタンパク質と反発を生じるようになり、逆に付着表面の電位がかなり高くなっても静電的な引力が生じると考えられる。従って、等電点が比較的低い

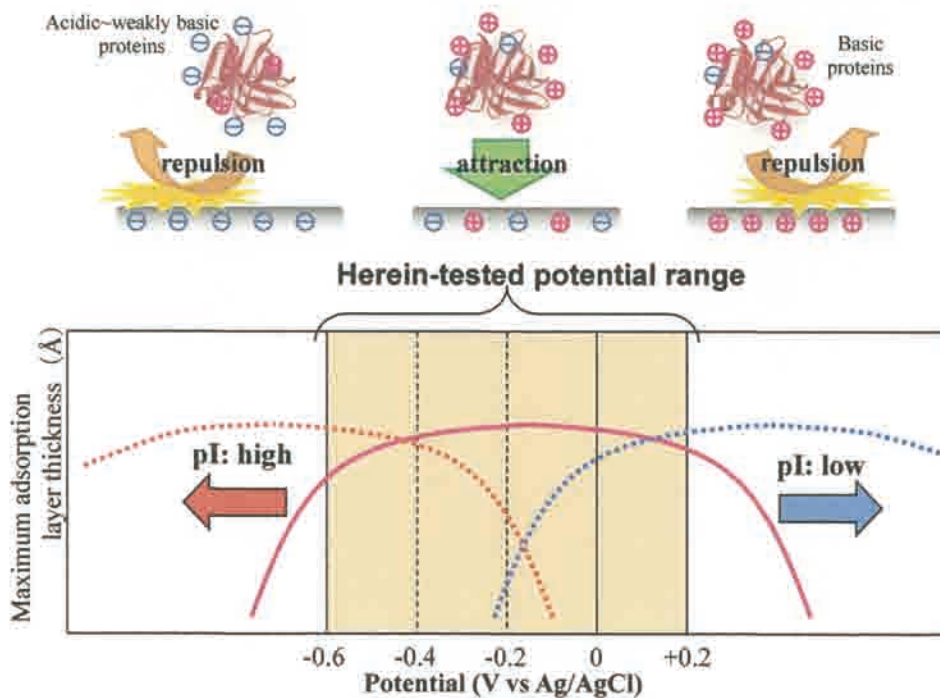


Fig. 4 A possible mechanism for relationship between applied potential dependence of protein adsorption layer thickness and protein pI

タンパク質の「吸着量-表面電位」の関係（曲線）は高電位側にシフトし、同様に塩基性の高いタンパク質は「吸着量-表面電位」曲線を低電位側にシフトさせることになる。その結果、測定で用いた表面電位の範囲では、酸性タンパク質および比較的塩基性の乏しいタンパク質は右上がりの曲線を示し、強い塩基性のタンパク質は右下がりの曲線、そして、その中間の塩基性のタンパク質は一見一定の値を示すものと考えられる。

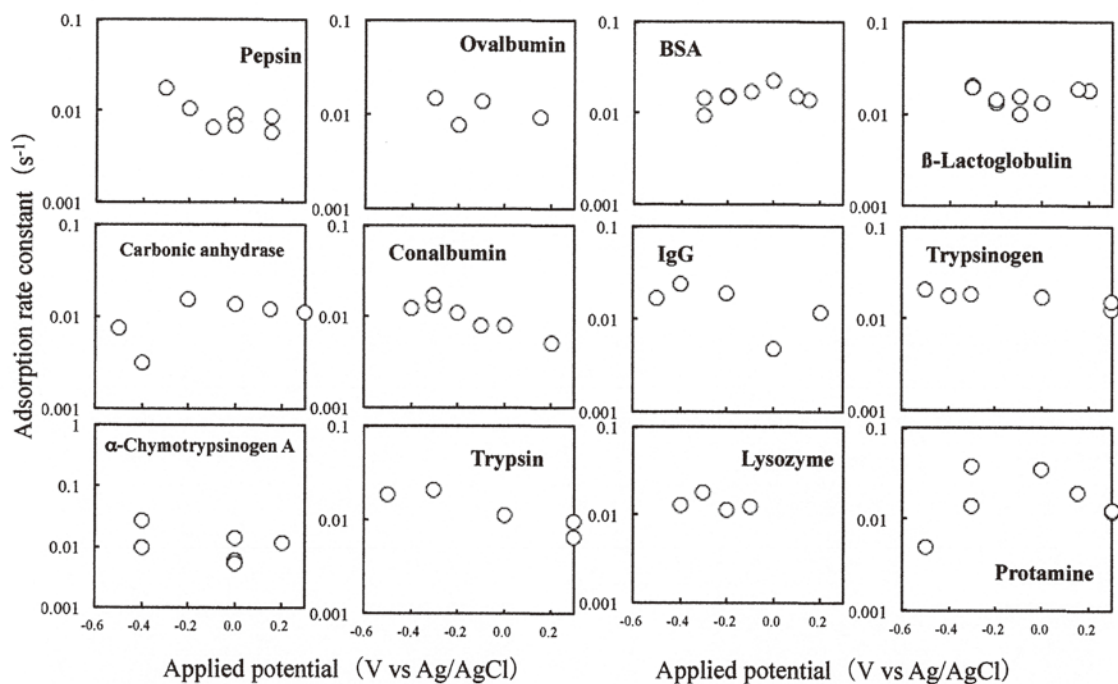


Fig. 5 First order-rate constant of protein adsorption on SUS316L surface for different proteins, as a function of applied electric potential

Protein concentration: 10 $\mu\text{g/mL}$, electrolyte: KCl (20 mM), temperature: $25 \pm 2^\circ\text{C}$

Fig. 5 に種々のタンパク質の吸着過程から読み出した初期吸着速度を印加電位に対してプロットした。これより、タンパク質の吸着の初速度はタンパク質の種類および印加電位によらず、 0.01 s^{-1} 程度であることが分かる。一般にタンパク質の固体表面に対する吸着は、(1)タンパク質分子の吸着表面への拡散・衝突、(2)吸着表面との相互作用の形成、(3)タンパク質の構造変化による吸着の不可逆化、の三段階からなると考えられている[8,9]。ここで、印加電位やタンパク質の種類（等電点など）によって(2)吸着相互作用の形成し易さや(3)不可逆化の確率は変化するはずであることから、今回のタンパク質の吸着過程は(1)タンパク質の吸着表面への到達・衝突が律速段階になっているものと考えられる。

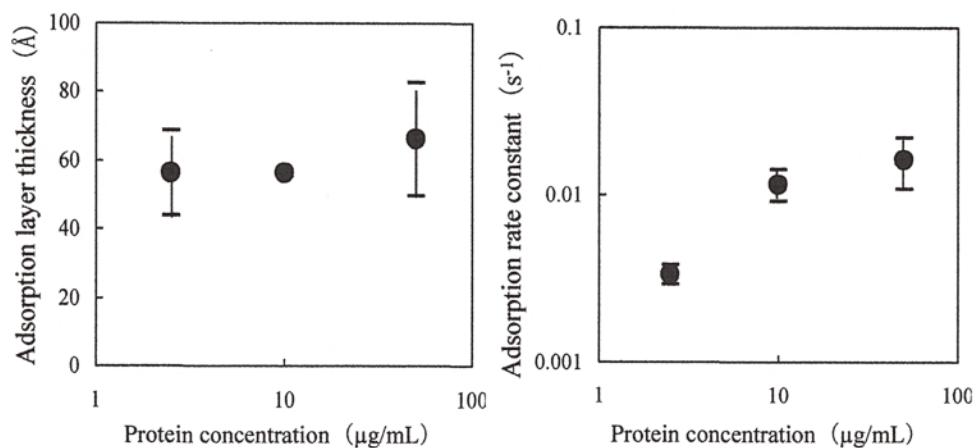


Fig. 6 Influences of protein concentration on maximum protein adsorption layer thickness and adsorption (initial) rate

Protein: BSA, Substrate: SUS316L, Electrolyte: 20 mM KCl, Potential: $-0.2 \text{ V vs Ag/AgCl}$

さらにタンパク質として BSA を用いて、タンパク質濃度が(i)最大吸着量および(ii)吸着初速度に及ぼす影響を調べた (Fig. 6). その結果, (i)最大吸着量厚みはタンパク質濃度にかかわらず変化しなかったのに対し, (ii)吸着初速度はタンパク質濃度とともに直線的に増加した. この結果からも, タンパク質吸着が拡散律速で生じているものと考えられる.

一方, 塩 (KCl) 濃度を変化させてタンパク質の吸着過程を測定した (Fig. 7) 結果, (ii)吸着初速度はいずれの印加電位においてもイオン強度 (塩濃度) に依存性を示さなかったが, (i)最大吸着量は印加電位に応じて異なる依存性を示した. すなわち, タンパク質の吸着がほとんど生じない電位 (-0.3 V vs Ag/AgCl) ではイオン強度による最大吸着量の変化はほとんど認められなかったが, ある程度吸着が生じる電位域 (-0.2 V vs Ag/AgCl) は, 塩濃度の増加に伴い最大吸着量は減少した. この傾向の原因として, 塩成分のカチオンが試料平板表面に高濃度に存在することで, タンパク質分子と相互作用を形成する表面サイト (水酸基およびイオン化した水酸基と考えられている) が減少するためと考えられる.

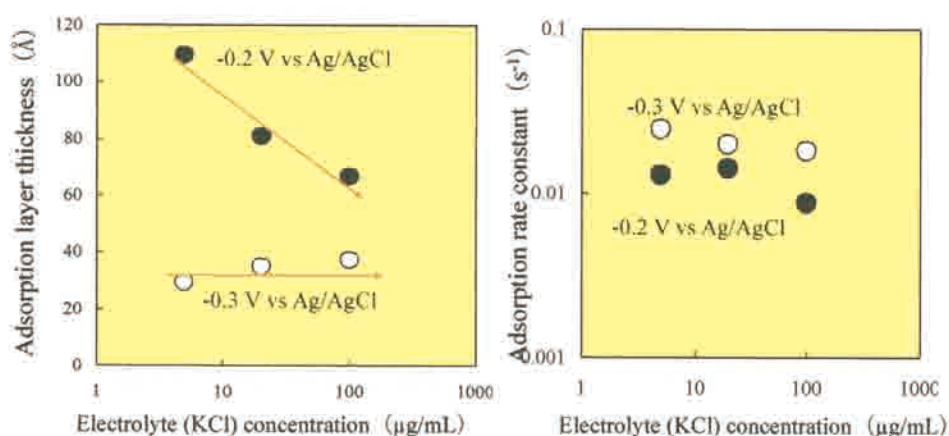


Fig. 7 Influences of electrolyte concentration on maximum protein adsorption layer thickness and adsorption (initial) rate

Protein: BSA, Substrate: SUS316L, Electrolyte: 20 mM KCl,

Surface potential: -0.2 V (closed keys) and -0.3 V vs Ag/AgCl (open keys)

3. 2. 吸着表面材質が吸着過程-表面電位の関係に及ぼす影響

タンパク質として lysozyme (LYZ) を用いて数種類の異なる材質の試料平板に対する吸着特性を解析した. 他のタンパク質と同様, 時間に対して一次反応的な増加傾向 (Fig. 8) を示した. Fig. 9 に各種表面材質について

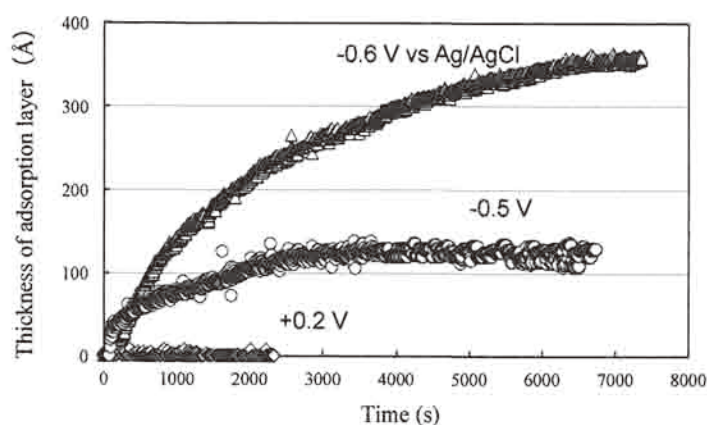


Fig. 8 Adsorption processes of lysozyme (LYZ) onto chromium substrate surface, polarized to different potentials, at 25±2°C. The initial LYZ concentration was 10 μg/mL.

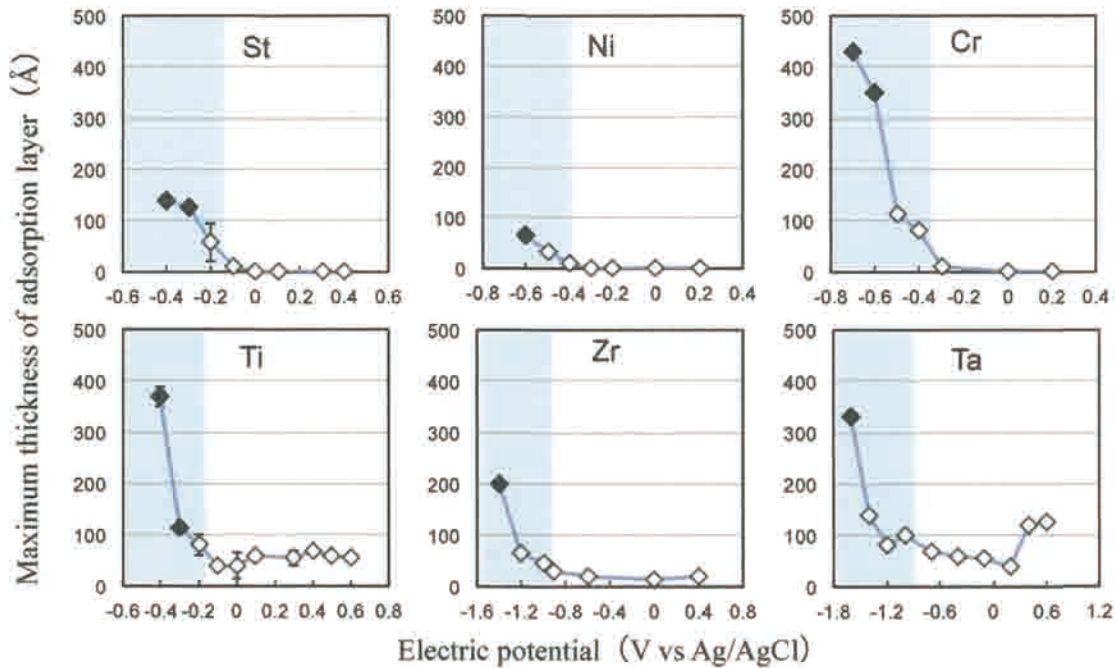


Fig. 9 Adsorption layer thickness on different metal surfaces, as a function of applied electric potential

Protein : lysozyme (LYZ, 10 $\mu\text{g/mL}$), electrolyte: KCl (20 mM), temperature: $25\pm 2^\circ\text{C}$

て、印加電位と(i)最大吸着量の関係測定した結果を示す。いずれの表面材質においても、吸着過程における(i)最大吸着量の印加電位依存性は定性的には同じ傾向を示した。すなわち、塩基性タンパク質であるLYZの場合は、負電位域で高い吸着量を示し、正電位側においてはタンパク質の吸着が顕著に抑制される電位域が存在した。これは、正電位域、負電位域ではそれぞれLYZ (net charge は正) と金属基板表面との間に静電的反発および引力が生じるためと考えられる。一方、いずれの表面材質においても、極負電位において吸着層厚みが連続的に増加し続ける現象が見られた (Fig. 8)。これは、タンパク質吸着層がある程度以上増加すると、タンパク質吸着層の電気抵抗により、電気化学実験装置の仕組み上、試料平板の真 (つまり、タンパク質吸着層底部) の表面電位は所定の値よりもさらに低く制御されていることが原因であると考えられる。

Fig. 9 において、(i)最大吸着量が増加し始める電位を比較すると、Ta, Zr がおよそ -0.9 V vs Ag/AgCl 以下でLYZ 吸着が顕著になり、ついで、Ni, Cr, Ti, SUS316L の順にタンパク質の

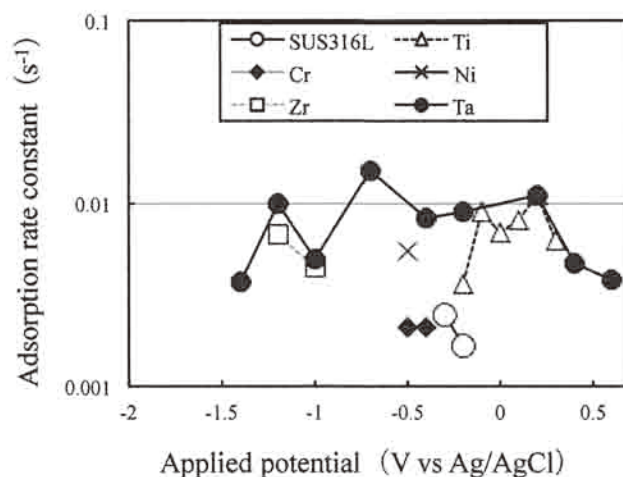


Fig. 10 First order-rate constant of protein adsorption on different metal surfaces, as a function of applied electric potential

Protein: LYZ (10 $\mu\text{g/mL}$), electrolyte: KCl (20 mM), temperature: $25\pm 2^\circ\text{C}$

吸着が制限される電位域が高電位側にシフトしていった (Ta, Zr<Ni<Cr<Ti<SUS). この序列は, 各金属材料の表面酸化被膜を介した電気伝導度[10]の大小関係と一致した. 電気伝導度が高いほど, 接近してきた荷電体 (タンパク質のイオン性側鎖) に対して電子分布を適合させやすいと考えられ, その結果, 静電的な反発を速やかに解消し, 相互作用を速やかに形成するため, 比較的高い電位域でLYZ吸着が生じたものと考えられる.

また, 試料平板の内, Ti および Ta では, 表面電位が上昇しても吸着層厚みは数十 Å 以上形成された. Ta と Ti は濡れ性が高い傾向があり (接触角等で定量化はしていない), 表面に水酸基を多数有しているものと推察される. その大量の表面水酸基が正電位領域におけるタンパク質吸着に関与しているのかも知れない.

Fig. 10 に各表面材質について(ii)吸着初速度の印加電位依存性を整理した. Cr と SUS でややタンパク質の吸着が緩やかに進行する傾向が見られるが, 大まかにはいずれの材質についても電位によらず 0.001 から 0.01 s⁻¹ 程度になった. この吸着初速度のオーダーは上述のBSAのものとはほぼ一致しており,LYZの吸着もまた,拡散律速であったと考えられる.

4. まとめ

多くのタンパク質について, ステンレス表面に対する吸着が極端に制限される表面電位域が存在することが分かった. このタンパク質の非吸着電位域は大まかにタンパク質の(酸性および塩基性)アミノ酸残基組成によって説明することができ, ステンレス表面に対するタンパク質吸着(および吸着の抑制)には, 表面とタンパク質間の静電的相互作用が大きく寄与しているものと考えられる. また, タンパク質の吸着速度は表面電位およびタンパク質の種類に依存せず, また, タンパク質濃度とともに直線的に増加することから, タンパク質吸着は拡散律速であると考えられる. 同様な傾向は, ステンレス以外の材料表面でも見られ, 一部の材質 (Ta および Ti) を除き, 表面電位によりタンパク質吸着を制御できることが示唆された. タンパク質の非吸着電位は表面材質により異なっており, 表面酸化膜を介した電気伝導性と相関関係があることが示唆された. 本研究で見られた「特定の表面電位域でタンパク質が吸着しない現象」は, タンパク質汚れの抑制技術に応用できる可能性があり, 今後, より実用的な系でタンパク質吸着を抑制できるか検討する予定である.

5. 引用文献

1. Sakiyama, T., Tanino, K., Urakawa, M. et al. (1999) Adsorption characteristics of tryptic fragments of bovine beta-lactoglobulin on a stainless steel surface. *J. Biosci. Bioeng.*, 88: 536-541.
2. Nakanishi, K., Sakiyama, T., and Imamura, K. (2001) On the adsorption of proteins on solid surfaces, a common but very complicated phenomenon. *J. Biosci. Bioeng.*, 91: 233-244.
3. Itoh, H., Nagata, A., Toyomasu, T. et al. (1995) Adsorption of β -lactoglobulin onto the surface of stainless steel particles. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 59: 1648-1651.
4. Imamura, K., Tada, Y., Tanaka, H. et al. (2001) Cleaning of a stainless steel surface fouled with protein using a UV-H₂O₂ technique. *J. Chem. Eng. Japan*, 34: 869-877.

5. Imamura, K., Tada, Y., Tanaka, H. et al. (2002) Removal of proteinaceous soils using hydroxyl radicals generated by the electrolysis of hydrogen peroxide. *J. Colloid Interface Sci.*, 250: 409-414.
6. Imamura, K., Sakiyama, T., and Nakanishi, K. (2002) In situ analysis of the removal behavior of protein adsorbed on a titanium surface by H₂O₂-electrolysis treatment. *Langmuir*, 18: 8033-8039.
7. Imamura, K., Watanabe, I., Sakiyama, T. et al. (2006) Effects of the supporting electrolyte on the kinetics of the removal of proteins adsorbed on a stainless steel surface by H₂O₂-electrolysis. *Langmuir*, 22: 7035-7040.
8. Ramsden, J.J. (1995) Puzzles and paradoxes in protein adsorption. *Chem. Soc. Rev.*, 24: 73-78.
9. Zhdanov, V.P., and Kasemo, B. (1998) Kinetics of irreversible adsorption of deformable proteins. *J. Chem. Phys.*, 109: 6497-6501.
10. Imamura, K., Oshita, M., Iwai, M. et al. (2010) Influences of properties of protein and adsorption surface on removal kinetics of protein adsorbed on metal surface by H₂O₂-electrolysis treatment. *J. Colloid Interface Sci.*, 345: 474-480.

紫外線 UV-C による植物 DNA 酸化傷害の修復機能に関する研究

岡山大学資源植物科学研究所 杉本 学

1. はじめに

紫外線は波長によりUV-A(320-400nm)、UV-B(290-320nm)、UV-C(100-290nm)に区分され、UV-AとUV-Bはオゾン層を通過する。地表に到達する紫外線の99%がUV-Aであるが、環境悪化に伴うオゾン層の破壊により今後UV-Cの影響も懸念される。また、今後人類が宇宙で長期にわたり活動する場合、食料自給のため宇宙環境で植物を栽培する必要があるが、宇宙には地球のような大気が無く、紫外線の影響は非常に大きいと予想できる。紫外線は生物内で様々な種類のDNA傷害を引き起こすことが知られており、酸化ストレスによるヌクレオチドの酸化による複製や遺伝子発現が阻害されることが大きな原因のひとつである。Nudix hydrolase (NUDX) はヌクレオシド-2リン酸類縁体 (nucleoside diphosphate linked to a moiety X) を加水分解してnucleoside monophosphate や phosphate-Xを生成するpyrophosphohydrolaseであり、酸化ヌクレオチド、糖ヌクレオチド、ジアデノシンポリリン酸 (Ap_nA)、NADH、コエンザイムA (CoA)、FAD等を基質とするサブファミリーに分類される。NUDXファミリーは細胞内における様々なシグナル分子や細胞にとって毒性となる物質の濃度調節や除去する役割を担っている。これまでに高等植物におけるNUDXファミリーの機能や遺伝子発現についてシロイヌナズナやキクについて報告されているが、単子葉植物についてほとんど報告は無く発現や機能については不明な点が多い。我々は28種類のシロイヌナズナ由来NUDX (AtNUDX) のアミノ酸配列と相同性を示すアミノ酸配列をコードするオオムギ由来遺伝子を検索し、14種類のNUDX遺伝子が存在することを明らかにした。本研究では、紫外線に対するオオムギの応答・防御メカニズムを明らかにすることを目的として、UV-Cで発現誘導するオオムギ由来NUDX (HvNUDX) 遺伝子の紫外線応答と機能について解析した。

2. 紫外線照射による遺伝子発現応答

オオムギ「はるな二条」種子を滅菌後、23°C暗所で発芽させた。発芽3日目に蛍光ライトによる照明 (250 mmol/m²/s) を1日行った後、幼芽を水耕栽培へ供した (4 mM KNO₃、1 mM NaNO₃、4 mM NaH₂PO₄、2 mM CaCl₂、1 mM MgSO₄、10 mM Fe-EDTA、5 mM H₃BO₃、5 mM MnSO₄、0.5 mM ZnSO₄、0.2 mM CuSO₄、0.1 mM H₂MoO₄、pH 7)。水耕栽培1日後、紫外線ライト (340 nm: 186 mmol/m²/s、312 nm: 431 mmol/m²/s、260 nm: 438 mmol/m²/s) を12時間照射し、幼芽を-80°C保存した。水耕栽培1日後、蛍光ライトを12時間照射した幼芽をコントロールとした。各幼芽から total RNA を抽出し poly(A)⁺ RNA を精製した。oligo(dT)プライマ

一を用いて 1st-strand cDNA を合成したものを鋳型にして Real-time PCR を行った。各遺伝子の発現量は α -Tubulin 遺伝子発現量でノーマライズした。

340 nm (UV-A) を照射した場合は *HvNUDX4* が 1.3 倍有意に増加し (図 1)、312 nm (UV-B) を照射した場合は *HvNUDX4*, 6 が 1.3, 7.8 倍それぞれ有意に増加し (図 2)、260 nm (UV-C) を照射した場合は *HvNUDX6*, 7, 12, 14 が 14.9, 2.6, 1.2, 2 倍それぞれ有意に増加した (図 3)。以上の結果から、UV-A では *HvNUDX3* が、UV-B では *HvNUDX4*, 6 が、UV-C では *HvNUDX6*, 7, 12, 14 が誘導され、紫外線の波長により発現応答が異なることが明らかとなった。

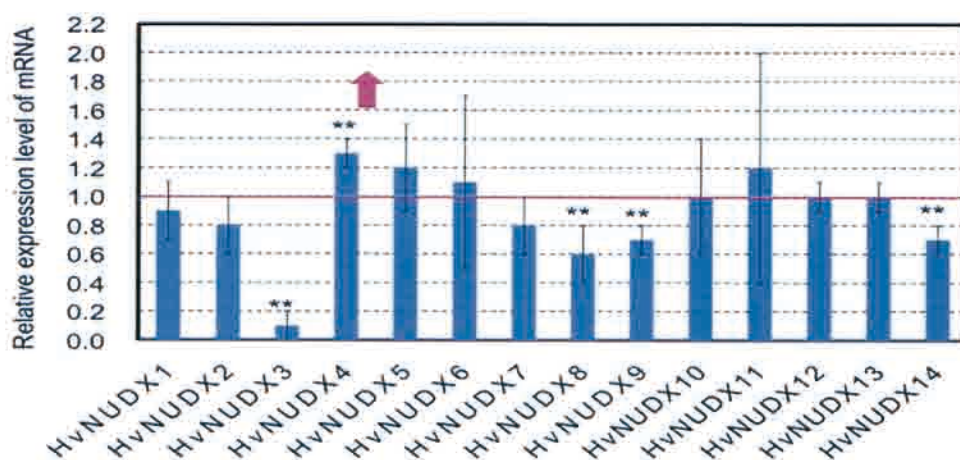


図 1. UV-A 照射オオムギ幼芽の *HvNUDX* 発現量

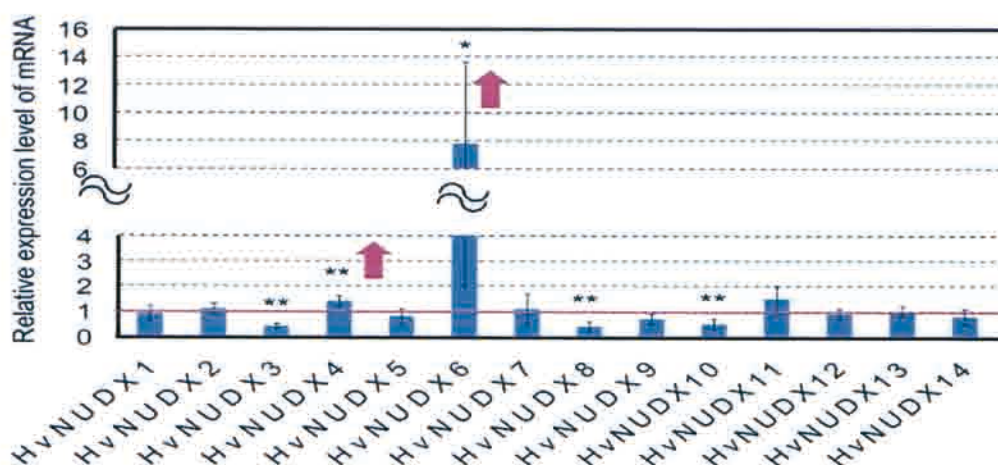


図 2. UV-B 照射オオムギ幼芽の *HvNUDX* 発現量

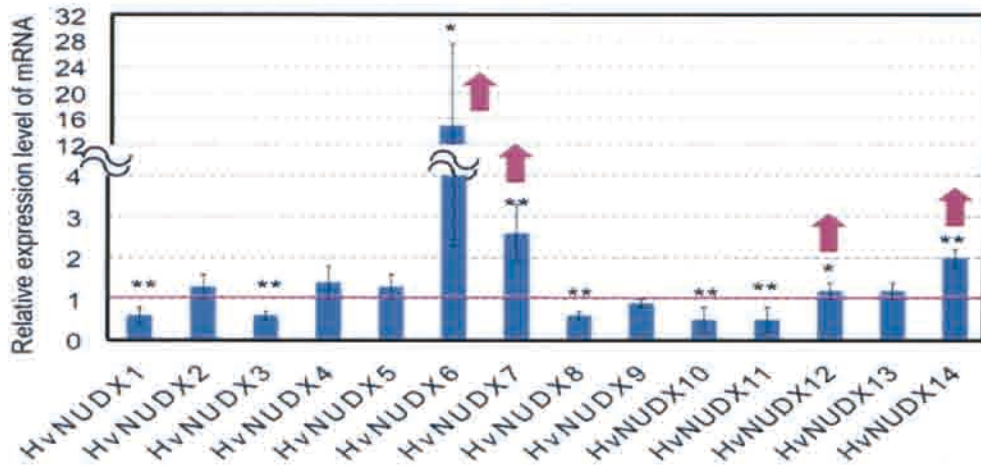


図 3. UV-C 照射オオムギ幼芽の *HvNUDX* 発現量

3. *HvNUDX* 遺伝子のクローニングと基質特異性

UV-C で誘導される *HvNUDX6*, *7*, *12*, *14* のオープンリーディング領域を PCR 法で増幅して大腸菌発現ベクターに挿入し、ヒスチジンタグ融合タンパク質として大腸菌内で高発現させ、酵素を Ni-NTA アフィニティーカラムで精製した。*HvNUDX6*, *7*, *12*, *14* の SDS-PAGE による分子量はそれぞれ 23.4、30.5、18.8、20.2 kDa であり、アミノ酸配列から推定される分子量 23.5、29.4、19.0、19.4 kDa とほぼ一致した (図 4)。

精製酵素の各基質に対する加水分解活性を測定した(表 1)。*HvNUDX7*, *12* は 8-oxo-dGTP、8-oxo-dGDP、ADP-ribose に対して活性を示し、さらに *HvNUDX12* は dGTP、dATP、dTTP、dCTP、AP₄A、AP₅A に対しても活性を示し、幅広い基質特異性を有することが明らかとなった。一方、*HvNUDX6*, *14* はいずれの基質に対しても活性を示さなかった。*HvNUDX12* の 8-oxo-dGTP、ADP-ribose 加水分解活性の至適 pH は pH 8.5 と pH 9.5 であり、8-oxo-dGTP 加水分解活性の K_m と V_{max} 、 V_{max}/K_m はそれぞれ 698 μ M、714 nmol/min/mg、1.0 nmol/min/mg/ μ M、ADP-ribose 加水分解活性の K_m と V_{max} 、 V_{max}/K_m はそれぞれ 759 μ M、103 nmol/min/mg、0.1 nmol/min/mg/ μ M であった。8-oxo-dGTP の V_{max} 値は、ADP-ribose に比べ約 10 倍高いことが示された。以上の結果、*HvNUDX12* は主として 8-oxo-dGTP を加水分解することが推定された。

4. *HvNUDX12* の転写エラー制御

lacZ 遺伝子上の 461 コドンがアンバー変異し β -ガラクトシダーゼ活性を示さない大腸菌 CC101 株 (野生型) に 8-oxo-dGTP 加水分解活性が欠損し蓄積された 8-oxo-G が mRNA の

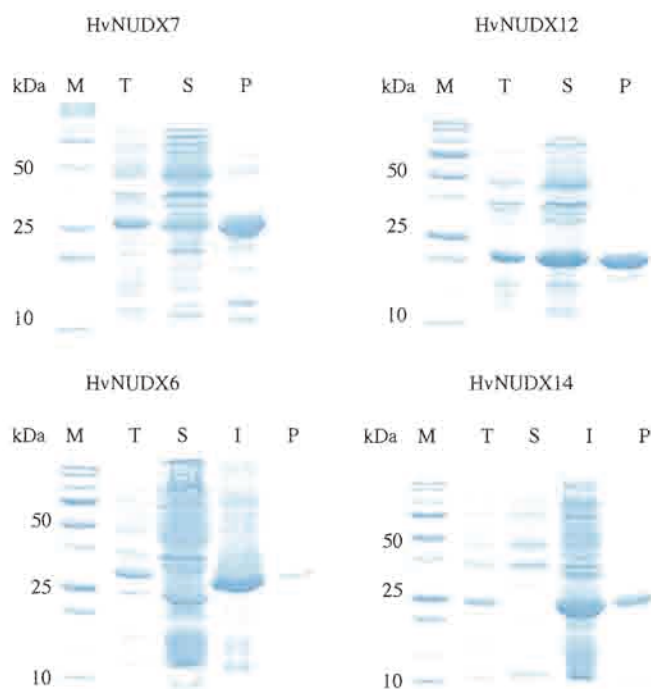


図 4. 大腸菌で発現した HvNUDX7, 7, 12, 14 の SDS-PAGE 分析
M, 分子量マーカー ; T, 大腸菌細胞抽出液 ; S, 可溶性画分 ; I, 不溶性画分 ; P, 精製酵素

表 1. HvNUDX の基質特異性

Substrate	HvNUDX6	HvNUDX7	HvNUDX12	HvNUDX14
8-oxo-dGTP	N.D.	0.53	18.3	N.D.
8-oxo-dGDP	N.D.	0.35	17.3	N.D.
dGTP	N.D.	N.D.	19.7	N.D.
dATP	N.D.	N.D.	16.0	N.D.
dTTP	N.D.	6.77	21.7	N.D.
dCTP	N.D.	N.D.	30.2	N.D.
NADH	N.D.	0.05	0.96	N.D.
ADP-ribose	N.D.	0.39	1.97	N.D.
AP ₄ A	N.D.	N.D.	1,071	N.D.
AP ₅ A	N.D.	N.D.	676	N.D.
UDP-Gal	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
CoA	N.D.	N.D.	10.4	N.D.
FAD	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

activity; nmo l / min / mg
N.D. ; not detected.

転写に誤取り込みされることでトランスバージョンの変異が生じ β -ガラクトシダーゼ活性を示す CC101T 株を、pTrc100 ベクターに HvNUDX12 を挿入したプラスミドで形質転換し、X-gal 含有プレートで培養した。

pTrc100 ベクター導入 CC101T は青色コロニーを形成したが、Trc100 / HvNUDX12 導入 CC101T は青色コロニー形成が減少した。CC101T 株の β -ガラクトシダーゼ活性は、HvNUDX12 遺伝子の導入により約 73% 有意に抑制された(図 5)。以上の結果から、UV-C で誘導される HvNUDX12 は紫外線等の酸化ストレスにより生成する酸化ヌクレオチドを加水分解し、DNA トランスバージョン変異を修復する機能を有することが示唆された。

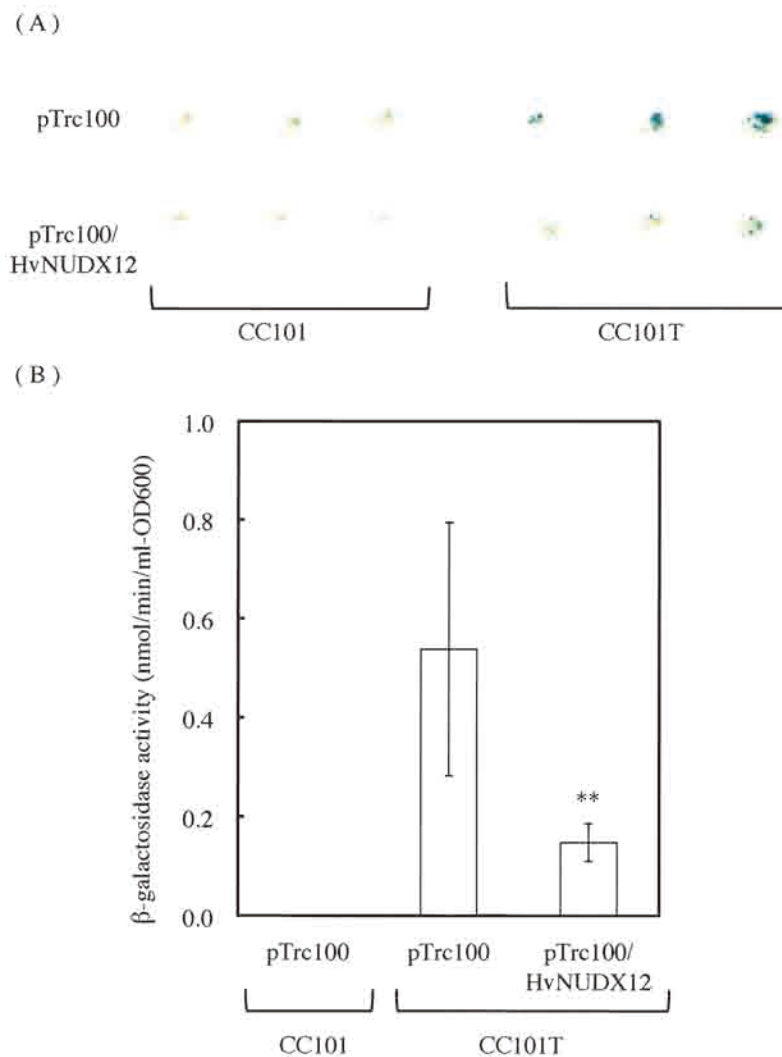


図 5. HvNUDX 遺伝子による転写エラー制御

(A) X-gal 含有寒天培地での pTrc100 ベクターと HvNUDX12 挿入 pTrc100 プラスミドで形質転換した大腸菌 CC101 と CC101T の生育 (B) 大腸菌細胞抽出液の β -ガラクトシダーゼ活性

(n=6、** $p < 0.01$)

5. まとめ

系統樹解析から HvNUDX12 は AP₄A pyrophosphohydrolase サブファミリーに分類されるが 8-oxo-dGTP や ADP-ribose に対して加水分解活性に対して加水分解活性と転写エラー抑制作用を有する。一方、HvNUDX12 と 66% の相同性を示す AtNUDX26 は AP₄A pyrophosphohydrolase サブファミリー分類されるが ADP-ribose 加水分解活性と転写エラー抑制作用を有しない。このように、植物の NUDX は同じサブファミリーに分類されても植物種の違いにより基質特異性が異なることやストレスに対する応答も異なることが明らかとなった。

今後は DNA 変異修復能を有することが明らかとなった HvNUDX12 遺伝子を導入した形質転換植物を作出して紫外線抵抗性や酸化ストレス抵抗性などの特性評価を行い、UV-C 抵抗性植物開発の可能性について検討する。

謝 辞

本研究を遂行するにあたり、多大なるご支援を賜りました財団法人八雲環境科学振興財団に深く感謝申し上げます。

乾式粉体流動に基づく粒状廃棄物分離技術の開発

岡山大学大学院自然科学研究科 押谷 潤

1. はじめに

資源の有効利用という観点から、廃棄物リサイクルが国を挙げての政策となっている。2001年4月に家電リサイクル法、2005年1月に自動車リサイクル法、2013年4月に小型家電リサイクル法がそれぞれ施行され、今後、廃棄物のリサイクルはますます推進されると考えられる。廃棄物のリサイクルを行う上での課題として各素材への分離が挙げられる。例えば、廃棄された自動車からエンジンやタイヤなどを取り除いた後に破碎・粉砕して得られるシュレッダーダスト中の鉄くずやプラスチック・ゴムに代表されるように、廃棄物は様々なものの混合物であり、リサイクルするためには各素材に分離しなければならない。一般的な分離技術として、水を用いた湿式比重分離技術が用いられているが、1) 廃液処理や乾燥工程が必要、2) 液体の比重調整が高コスト、3) 分離装置からの液漏れによる作業環境の劣悪化、4) 水資源枯渇地や寒冷地での利用が困難などの問題を抱えているため、特に廃棄物リサイクル分野では代替技術として水を用いない乾式比重分離技術が求められている。

以上の社会的背景の下、著者らの研究グループは、固気流動層を用いた独自の乾式比重分離技術の開発に取り組んできた。固気流動層とは、粉体を下部からの送風により乾式で流動化させたもので水に似た性質を持つために、図1に示すように、塊状物を層内に投入すると比重差に基づく物体浮沈が生じてそれらの分離が可能である[1-10]。これまでに浮沈物を連続的に分離・回収可能な装置を開発し、図2に示す装置を廃プラスチック・廃非鉄金属の分離用として廃棄物リサイクル企業で実用化を果たしている。

しかし、上記の技術は、サイズが5mm以下の粒状物の分離が困難といった決定的な問題を抱えている。産業界では、粒状廃棄物のリサイクルという新たなニーズが高まっており、様々なプロセスに由来する粒状廃棄物からの有価物分離・回収に関する技術相談を複数の企業から受けてきた。そこで本研究では、固気流動層内での密度偏析現象に注目し、粒状廃棄物を対象とした新規乾式分離技術の開発を目的として基礎研究を行った。

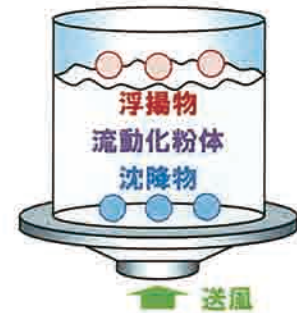


図1 物体浮沈現象



図2 実用化装置の写真

図3に示すように、密度が異なる粉体を混合して流動化させると、密度の小さい粉体が上層に、密度の大きい粉体が下層に偏る密度偏析と呼ばれる現象が起こる。同現象は古くから知られており、粉体の密度差と密度偏析度の関係が数多く報告されているが[11-17]、同現象を粒状廃棄物の分離技術に適用した報告はほとんど見られない。

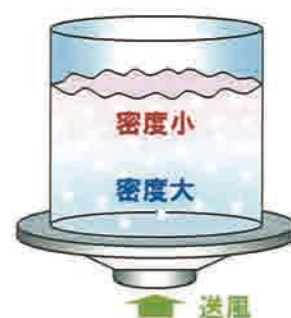


図3 密度偏析現象

そこで本研究では、粒状廃棄物のモデルケースとして鉄粉とガラス粉の混合粉体を対象に密度偏析実験を行った。なお、一般的な粒状廃棄物として重金属とセラミックスの混合系が多く存在しており、重金属を鉄粉で、セラミックスをガラス粉で模した内容となっている。実験では、まず風速を変化させて密度偏析の程度がどのようになるかを調べた後に、いくつかの風速において流動化時間を変化させて密度偏析が時間と共にどのように進行するのかを調べた。最後に、得られた結果を基に固気流動層内での密度偏析現象を利用した連続分離装置をどのように設計すればよいかの検討を行った。

2. 実験方法

分離対象の混合粉体として、直径 180~212 μm で球形の鉄粉とガラス粉をかき体積混合割合がそれぞれ 50%となるように混合したものを用意した。なお、鉄粉とガラス粉のかき密度は、それぞれ 1.5g/cm³ と 4.5g/cm³ である。また、以後の実験で、密度偏析実験後の混合粉体のかき密度から鉄粉のかき体積混合割合 V_{iron} を求めるために、検量線として混合粉体のかき密度と V_{iron} の関係式を求めた。

流動層装置として内径 100mm、高さ 500mm、厚さ 5mm のアクリル円筒管の底に空気分散板を設置したものをを用いた。混合粉体を層高 100mm となるように装置に入れ、コンプレッサーからの空気に対してマスフローコントローラーにより風速 u_0 を制御して装置底部から送り込んだ。風速と層底部の圧損の関係を調べ、混合粉体が流動化し始める風速である最小流動化速度 $u_{\text{mf}}=5.8\text{cm/s}$ を得た。同様に、鉄粉のみとガラス粉のみの u_{mf} を調べたところ、それぞれ 3.1cm/s と 9.2cm/s を得た。

風速と密度偏析度の関係を調べるために、 $u_0=6.2\sim 15.0\text{cm/s}$ の範囲の 21 条件で以下の実験を行った。まず、混合粉体を層高 100mm となるように装置に入れ、各風速で流動化させ 600 秒後に送風を停止した。その後、高さ方向で全 10 層となるように区別し、最上層から 10mm ずつ別々に吸引機で回収した。得られた各層の粉体に対してメスシリンダーと電子天秤を用いてかさ体積と重量を求めてかさ密度を計算後、上記の検量線より得た式を用いて各層の V_{iron} を求めた。さらに、密度偏析の程度を数値化するために、次式を用いて密度偏析度 E を求めた。

$$E = \left(\frac{1}{10} \sum_{i=1}^{10} \frac{|50 - V_{i,\text{iron}}|}{50} \right) \times 100 \quad (1)$$

式中の 50 は鉄粉とガラス粉が偏析せずに完全に混合状態にあるときの $V_{\text{iron}}=50\%$ を示すもので、各層の $V_{i,\text{iron}}$ の値と 50% の差の絶対値を 50 で割り、その値を全層で平均したものとなっている。なお、鉄粉が下層に、ガラス粉が上層に完全に分離して偏析した場合は $E=100\%$ 、完全に混合状態の場合は $E=0\%$ となるように定義されている。

また、 $u_0=9.2, 10.4, 11.8\text{cm/s}$ の 3 条件で流動化時間 $t=0\sim 600\text{s}$ の範囲で変化させて同様の実験を行った。

3. 結果と考察

3-1. 風速と密度偏析度の関係

図4に密度偏析実験前の初期状態も含め、各 u_0 での各層の V_{iron} を示す。なお、図中の層番号1は最上層を、10は最下層をそれぞれ示す。初期状態ではいずれの層でも $V_{\text{iron}} \approx 50\%$ で、鉄粉とガラスビーズがほぼ完全混合となっている。 u_0 を徐々に増加させると、上層では最上層から徐々に V_{iron} の値が減少し、下層である6~10層目では一様に V_{iron} の値が増加した。 $u_0=10.4\text{cm/s}$ では上5層で $V_{\text{iron}} \approx 0\%$ となりガラス粉が大半を占め、下5層で $V_{\text{iron}} \approx 100\%$ となり鉄粉が大半を占める結果となった。さらに u_0 を増加させると、上層の V_{iron} が増加、下層の V_{iron} が減少し、 $u_0=15.0\text{cm/s}$ では最下層を除きほぼ完全混合となった。図5に u_0 と E の関係を混合粉体と鉄粉の u_{mf} と併せて示す。 u_0 の増加と共に混合粉体の u_{mf} 付近から E は徐々に増加し、鉄粉の u_{mf} を少し超えたところで E は最大値となり、さらに u_0 を増加させると E は減少し、 $u > 12.8\text{cm/s}$ で E は急激に減少した。鉄粉の u_{mf} 以下では鉄粉の流動性が極めて低いために下層のガラス粉が上層に移動しにくく E は小さな値を示すが、 u_0 が鉄粉の u_{mf} に近づくと鉄粉の流動性が幾分高まるため E が増加したと考えられる。 u_0 増加に伴い E の値が最大値を示し増加から減少に転じた理由に関しては、鉄粉の流動性がさらに高まるために、特に上下層の界面付近(6層目)の V_{iron} が減少し E の減少を引き起こしたと考えられる。さらに u_0 を増加させると層全体の流動化が極めて激しくなるために、鉄粉とガラス粉の上下層の移動が阻害されるために E が急激に減少したと考えられる。

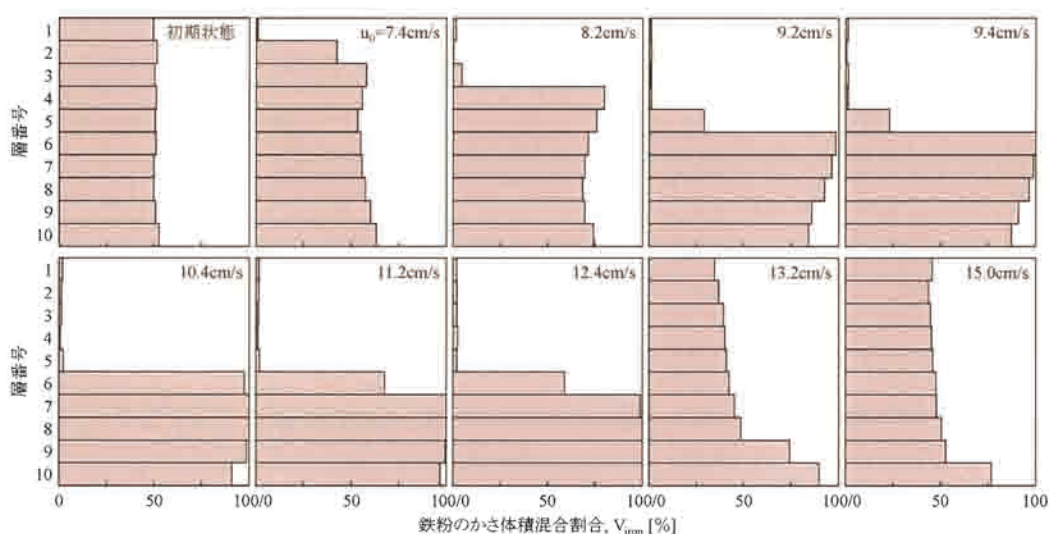


図4 各風速における各層の鉄粉のかさ体積混合割合

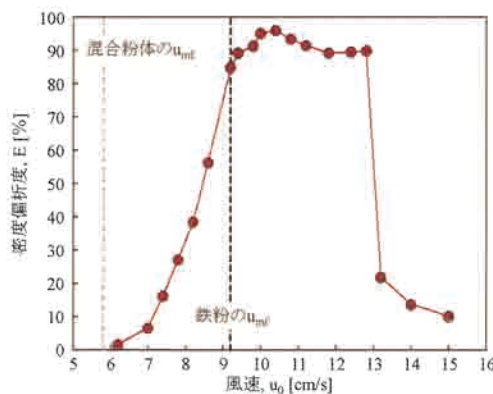


図5 風速と密度偏析度の関係

3-2. 流動化時間と密度偏析度の関係

鉄粉の u_{mf} である $u_0=9.2\text{cm/s}$ 、前項に示したように E が最大値となった $u_0=10.4\text{cm/s}$ 、および E が減少に転じた $u_0=11.8\text{cm/s}$ の3つの風速において流動化時間 t を変化させて実験を行った。図6に $u_0=9.2\text{cm/s}$ での各 t での各層の V_{iron} を初期状態も含めて示す。また、図7に3つの風速における各層の V_{iron} を t に対してそれぞれ示す。 $u_0=9.2\text{cm/s}$ では、流動化時間の経過と共に、まず最上層（1層目）の V_{iron} が減少し、続いて2層目、3、4、5層目と順番に V_{iron} が減少しており、逆に下5層の V_{iron} は一様に徐々に増加する傾向となった。これらの結果は、 $u_0=9.2\text{cm/s}$ では上層から徐々に密度偏析が進行することを示している。次に E が最大値となった $u_0=10.4\text{cm/s}$ では、図7

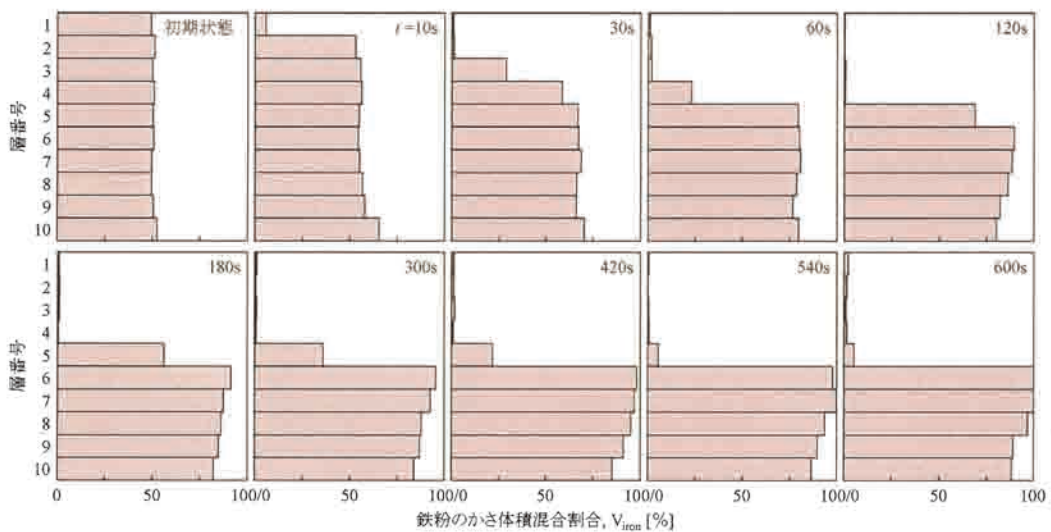


図6 各流動化時間における各層の鉄粉のかさ体積混合割合 ($u_0=9.2\text{cm/s}$)

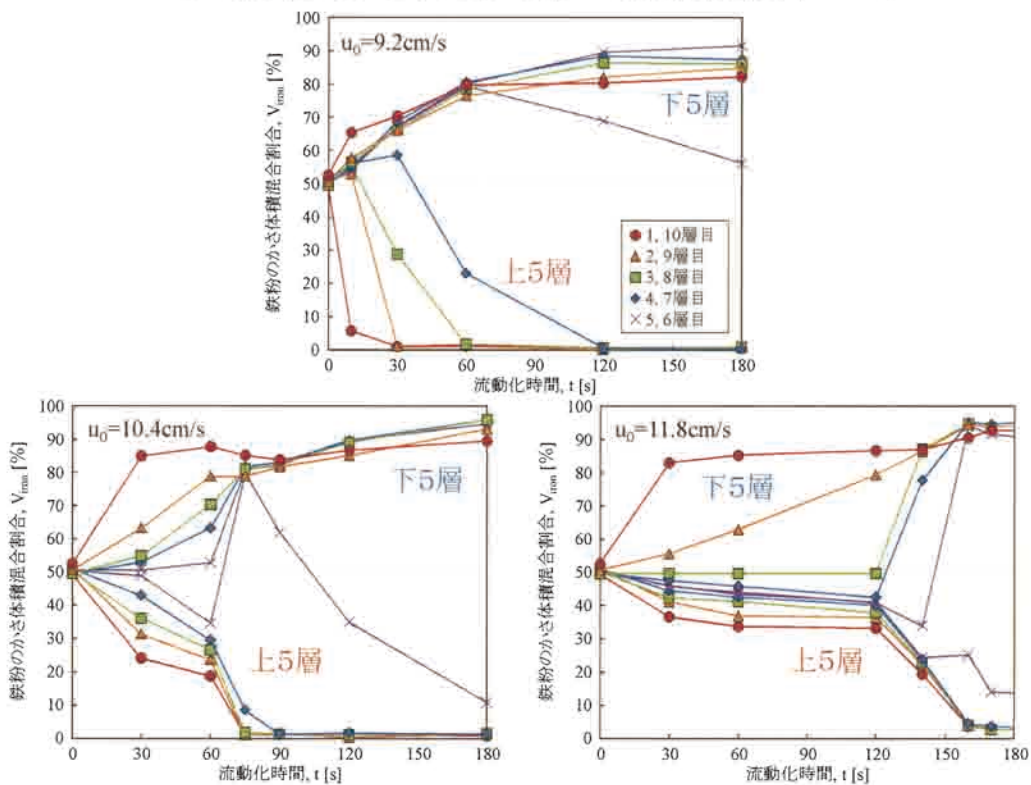


図7 風速と密度偏析度の関係

の左下を見れば明らかなように、流動化時間の増加に伴い、上下層で同時に密度偏析が進行する結果となった。一方、Eが減少に転じた $u_0=11.8\text{cm/s}$ では、 $u_0=9.2\text{cm/s}$ の場合とは逆に、まず最下層（10層目）の V_{iron} が増加し、続いて9層目、8、7、6層目と順番に V_{iron} が増加しており、逆に上5層の V_{iron} は120sとかなりの時間が経過した後に一様に減少する傾向となった。これらの結果は、 $u_0=11.8\text{cm/s}$ では下層から徐々に密度偏析が進行することを示している。以上の様に、風速によって密度偏析の進行の様子が異なる興味深い結果を得た。これらの違いの要因については、前項でも述べたように、各風速での鉄粉の流動性の違いに起因すると考えられる。

4. 連続分離装置の設計指針

前項の通り、固気流動層内での密度偏析では、密度偏析度が最大となる風速が存在することと、風速によって密度偏析の進行具合に違いがあり、上層から密度偏析が進行する風速、上下層同時に進行する風速、下層から進行する風速が存在することが明らかとなった。これらの傾向を踏まえ、低風速では上層の密度偏析が進行しやすいと考え、以下のような仮説を立てた。密度偏析度が最大となる風速から徐々に風速を減少させながら密度偏析を進行させると、密度偏析度が最大となる風速で一定として密度偏析を進行させる場合よりも、特に密度分布のある粒状混合物の場合では密度偏析度が大きくなるのではないかと考えた。そこで、密度分布のある粒状混合物を用いて実験を行ったところ、この仮説が正しいことを示す結果が得られた。以上の結果をもとに、風速が異なる複数のセクションを直列につないだ流動層が、本技術をベースとした連続分離装置として適しているのではないかとこの装置の設計指針の獲得に至った。

5. まとめ

乾式粉体流動に基づく粒状廃棄物分離技術の開発というテーマのもと、鉄粉とガラス粉の混合粉体をモデルケースとして用いて基礎実験を行った。まず、固気流動層内での密度偏析に基づいて粒状からなる混合物を分離する際に、最適な風速が存在することを解明したことは、将来的に分離装置の運転条件を決定する上で重要な知見であると言える。このような最適風速は混合系の密度やサイズの影響を受けると考えられるため、今後は、様々な密度やサイズの組み合わせにおいても同様の実験を行い、得られた結果を本技術の装置化の際に活かせればと考えている。また、風速によって上層からの密度偏析、上下層同時の密度偏析、下層からの密度偏析という3つのパターンの存在が明らかとなり、粒状廃棄物の構成物のうち有価物の密度が大きい小さいかで風速設定を変えることが有用であることが見出された。また、5分程で密度偏析が定常状態に達することが明らかとなり、こちらも分離装置における時間当たりの処理量という観点で有意義な結果と言える。今後は、層高を高くするなど、より実用的に研究を進める予定である。風速変化と流動化時間変化の結果に基づき、風速減少法という新規提案を行い、密度分布のある混合粉体を用いた新たな実験を通じて、密度偏析度が最大となる風速から徐々に風速を減少させることにより、風速を一定とする場合よりも密度偏析度が増加することが明らかとなり、風速が異なる複数のセクションを直列につないだ流動層が連続分離装置として適していることが示唆された。よって、次のステップとして同装置を作成して流動廃棄物の分離実験を行い、将来的には廃棄物リサイクルへのさらなる社会貢献を行いたいと考えている。

6. 謝 辞

本研究を遂行するにあたり、多大なるご支援を頂きました財団法人八雲環境科学財団に深く感謝申し上げます。

参考文献

- 1) J. Oshitani, T. Kajiwara, K. Kiyoshima, Z. Tanaka, *KONA Powder Part. J.*, **21** (2003) 185–194.
- 2) T. Sekito, T. Matsuto, N. Tanaka, *Waste Management*, **26** (2006) 1422–1429.
- 3) R.K. Dwari, K. Hanumantha Rao, *Miner. Process. Extr. Metall. Rev.*, **28** (2007) 177–234.
- 4) Z. Luo, M. Fan, Y. Zhao, X. Tao, Q. Chen, Z. Chen, *Powder Technol.*, **187** (2008) 119–123.
- 5) M. Yoshida, S. Nakatsukasa, M. Nanba, K. Gotoh, T. Zushi, Y. Kubo, J. Oshitani, *Adv. Powder Technol.*, **21** (2010) 69–74.
- 6) S.A. Macpherson, S.M. Iveson, K.P. Galvin, *Miner. Eng.*, **23** (2010) 74–82.
- 7) J. Oshitani, G.V. Franks, M. Griffin, *Adv. Powder Technol.*, **21** (2010) 573–577.
- 8) J. Oshitani, T. Kawahito, M. Yoshida, K. Gotoh, G.V. Franks, *Miner. Eng.*, **24** (2011) 70–76.
- 9) Q. Wang, W. Yin, B. Zhao, H. Yang, J. Lu, L. Wei, *Fuel Process. Technol.*, **124** (2014) 28–34.
- 10) G.V. Franks, M. Firdaus, J. Oshitani, *Int. J. Miner. Process.*, **121** (2013) 12–20.
- 11) P.N. Rowe, A.W. Nienow, *Powder Technol.*, **15** (1976) 141–147.
- 12) R.W. Rice, J.F. Brainovich Jr., *AIChE J.*, **32** (1986) 7–16.
- 13) A.C. Hoffmann, L.P.B. M. Janssen, J. Prins, *Chem. Eng. Sci.*, **48** (1993) 1583–1592.
- 14) G.A. Bokkers, M. van Sint Annaland, J.A.M. Kuipers, *Powder Technol.*, **140** (2004) 176–186.
- 15) K.P. Galvin, R. Swann, W.F. Ramirez, *AIChE Journal.*, **52** (2006) 3410–3410.
- 16) K.G. Palappan, P.S.T. Sai, *Ind. Eng. Chem. Res.*, **50** (2011) 13056–13065.
- 17) C. Tagliaferri, L. Mazzei, P. Lettieri, A. Marzocchella, G. Olivieri, P. Salatino, *Chem. Eng. Sci.*, **102** (2013) 324–334.

表面増強ラマン分光法による揮発性有機化合物の分析

岡山大学大学院自然科学研究科

武安 伸幸

1. 諸 言

今日、我々の身の回りには化学製品が溢れている。化学技術は我々の生活を豊かにしてくれる一方で、その濫用は健康被害を招きかねない。近年、急速な発展を遂げている中国では環境汚染が深刻化しており、中でも PM2.5 は、中国国内だけの問題にとどまらず、日本もその影響を受けている。世界保健機関の専門組織である国際がん研究機関は PM2.5 の発がんリスクを最高レベルに分類した。PM2.5 の生成には、ススや粉塵などの他に、燃焼による排ガスや揮発性有機化合物(VOCs)が関与するケースがある。VOCs は、化学品製造、パルプ製造、石油精製、石油化学、塗装、食品事業など、幅広い分野において利用されている。大気中に存在する VOCs は低濃度であっても、シックハウス症候群のように長期的な摂取により吐き気やめまい、アレルギーなど、健康被害が生じる恐れがある。したがって、VOCs の包括的な検出のために、高感度分析を目指した様々な手法が試みられている¹⁻³。例えば、VOCs がガス状であることから、ガス分析に用いる分析機器の感度と選択性を考慮したガスクロマトグラフ/質量分析法(GC/MS)がそうである。本手法は、標準物質との比較による定性・定量だけでなく、公表されている豊富な質量スペクトルデータを利用した環境中の未確認化学物質の探査調査も可能となるメリットがある。その一方で、測定時間の短縮化や、操作の簡便化、システム全体の小型化などの問題を抱えており、新しいガス分析システムの研究が必要となってきた^{3,4}。

これに対し、非破壊で前処理不要、かつ分子構造に関する情報を直接得ることができるラマン分光法は、分析の簡便さで他の手法を圧倒する。近年、レーザー光源や冷却型 CCD 検出などの飛躍的な技術発展によって、比較的簡単にラマンスペクトルが得られるようになってきた。しかしながら、ラマン分光の本質的な問題として、測定物のラマン散乱断面積が小さく、ラマン散乱強度が極めて微弱であるために検出が困難となることが挙げられる。その問題を解決する手段として、表面増強ラマン散乱(Surface-Enhanced Raman Scattering : SERS)分光法がある。SERS 分光法は、貴金属ナノ構造に依存する表面プラズモンの形成に伴う電場増強効果を利用して、ラマン信号強度を何桁も増強できる技術である。SERS 測定に用いる基板の性能は表面のナノ構造に左右される⁵。実際に、銀の反射型プラズモンセンサを作製し、それを SERS 基板として利用することで、VOCs の 1 つであるメチルメルカプタンを 10 ppb の濃度で検出可能という報告

がある⁶。しかしながら、VOCsをSERSで計測した報告は数少ない。

SERS基板表面に必要とされる貴金属ナノ構造の加工には、精密にナノ構造を作製できるトップダウン的手法が用いられているが、トップダウン的手法は加工装置が高価なことや生産効率が低いことなどが課題である。一方、ボトムアップ的手法は、大量のナノ構造を短時間に低コストで作製できる長所がある。そのため産業化・製品化には向いている。ところが、構造全体に渡って均一なナノ構造を作製することや基板ごとに同じ形状を作ることが困難で再現性が低い。そのため、同じ種類・濃度の試料を計測しても、サンプルごとにラマン信号強度が大きく異なりスペクトルの信頼性に欠ける点が問題となっている。これらのボトムアップ的手法の問題を解決する1つの方法として、図1のように大きさの決まった粒子を最密充填で平面に並べることにより、貴金属ナノ表面を形成する方法が挙げられる。この貴金属ナノ粒子の表面に光が照射されると、表面近傍で強い電場が形成され、増強されたラマン信号が得られる⁷。



図1：多数のナノギャップを有する最密充填配列構造

本研究は、1-ドデカンアミンを用いて作製した水中油滴型エマルジョンを銀ナノ表面の形成に利用する。銀ナノ粒子は作製された油滴表面にトラップされ、油滴の凝集・合一を経て、油/水界面に並び、銀ナノ粒子最密充填膜が自己組織的に形成される。作製した膜は、スライドガラスに移しとりSERS基板として利用できる⁸。この基板を用いて、VOCsの1つであるトルエンを水に溶かして調製した飽和トルエン水溶液のSERS計測を行ったので報告する。

2. 実験

SERS測定に用いる励起レーザーの波長は532 nmであり、プラズモン共鳴波長をマッチさせるために、銀ナノ粒子最密充填膜を作製した。まずY. Wanらの報告⁹を参考に、2-1.銀ナノ粒子の合成を行った。さらに、水中油滴型エマルジョンを利用して、合成した銀ナノ粒子を平面に並べ、SERS基板を作製した(2-2)。このSERS基板を用いて、VOCsの1つであるトルエンのラマンスペクトルを測定した(2-3)。

2-1. 銀ナノ粒子の合成

銀ナノ粒子のシードを次の方法で作製した。超純水22.5 mLに0.1% (w/v) クエン酸三ナトリウム水溶液6 mLを加え、70 °Cになるまで加熱した。その後、0.1% (w/v) 硝酸銀水溶液0.51 mL、0.01% (w/v) 水素化ホウ素ナトリウム水溶液

0.6 mL を素早く加えた。反応溶液は 70 °C で 1 時間反応させ、色が無色から黄色に変化したことを確認したら、その後室温になるまで放冷した。次に、作製した銀ナノ粒子のシード溶液 3.0 mL と 1% (w/v) クエン酸三ナトリウム水溶液 6 mL を超純水 22.5 mL に加え、沸騰するまで加熱した。沸騰後、1.0% 硝酸銀水溶液 0.51 mL を加え、1 時間反応させた。その後、作製した銀ナノ粒子を室温になるまで放冷した⁽⁸⁾。作製した銀ナノ粒子は、次に述べる SERS 基板の作製で用いた。

2-2. SERS 基板の作製

図 2 に SERS 基板の作製方法を示す。超純水 30 ml に 20 mM ラウリルアミン ($C_{12}H_{25}NH_2$) のヘキサン溶液 300 μ l を加え、超音波処理することにより、エマルションを作製した (図 2a)。このエマルションに先ほど作製した銀ナノ粒子溶液 6 ml を加えると、溶液は白色から橙色に変化した。これは、油滴表面に銀ナノ

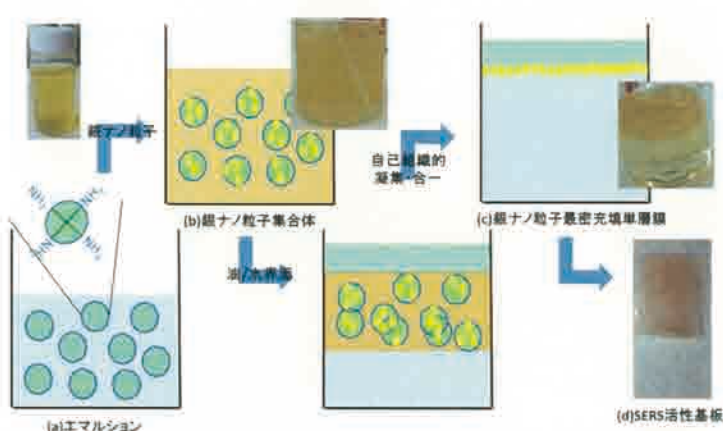


図 2 SERS 基板の作製法

(a)水中油滴型エマルションの作製, (b)銀ナノ粒子集合体の形成, (c)銀ナノ粒子最密充填単層膜, (d)SERS 基板

粒子がトラップされ、銀ナノ粒子集合体が形成されたことを示唆している (図 2b)。この溶液にスライドガラスを浸し、ヘキサンを加えて表面に有機層を作り放置する。銀ナノ粒子を纏った油滴の凝集・合一が起こるため、油/水界面に銀ナノ粒子が自己組織的に並び、銀ナノ粒子最密充填単層膜を形成する (図 2c)。水層部分が透明になったことを確認した後、油/水界面上の銀ナノ粒子最密充填単層膜をスライドガラス基板に移しとり、乾燥させた。この基板を SERS 基板として利用した (図 2d)。銀ナノ粒子溶液と SERS 基板の光学特性を調べるために、紫外可視吸収分光光度計 (UV-2400PC) を用いて、プラズモン共鳴波長を測定した。

2-3. 飽和トルエン水溶液の SERS 測定

作製した SERS 基板を用いて、飽和トルエン水溶液 (トルエン濃度 : 5.1 mM) のラマン分光測定を行った。SERS 基板は、測定を行う前に超純水とエタノール溶液で交互に超音波洗浄を行い、乾燥させた後に測定に用いた。SERS 活性基板

上に穴の開いたシリコンゴムシートを張り付け、穴の中に飽和トルエン水溶液 40 μl を滴下し、カバーガラスで蓋をした (図 3)。トルエンの水に対する溶解度は室温において 0.47 g/L であり、これはモル濃度に換算すると 5.1 mM となる。SERS 測定には、顕微ラマン分光光度計(レーザー波長：532 nm, 20 倍対物レンズ NA : 0.45)を用いた。レーザーパワーは 0.6 mW, 積算時間は 10 s で測定した。

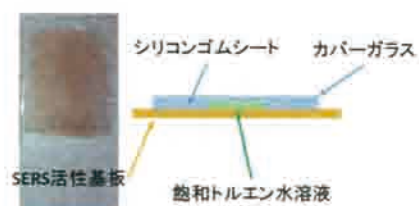


図 3 測定試料の準備

3. 結果および考察

3-1. 銀ナノ粒子溶液と SERS 基板の消光スペクトル

図 4 に(a)合成した銀ナノ粒子と(b)SERS 基板の消光スペクトルを示す。銀ナノ粒子のピーク波長が 392 nm であることから、その粒子径は ~ 20 nm と推測される。銀ナノ粒子溶液では、個々の銀ナノ粒子に起因するプラズモン共鳴が観測されることから、銀ナノ粒子が溶液中で分散していることが分かる。一方、銀ナノ粒子が 2 次元平面に並んだ膜のピークは 524 nm へとレッドシフトし、スペクトルの広がりも確認された。このことから、銀ナノ粒子間で干渉が起こるほど、銀ナノ粒子間のギャップが短くなったことが伺える。膜のピーク波長は 524 nm であり、波長 532 nm のレーザー光が膜と高効率でカップリングすることを示している。

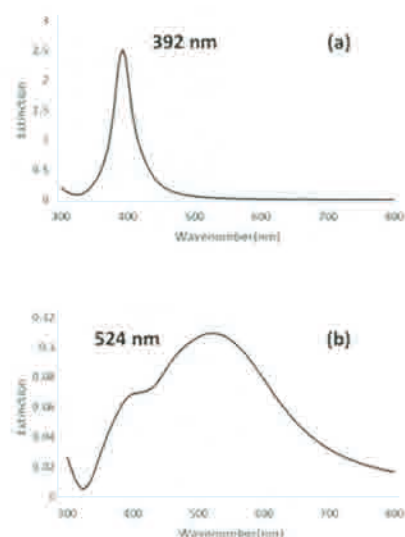


図 4 (a)銀ナノ粒子溶液, (b)SERS 基板の消光スペクトル

3-2. 飽和トルエン水溶液の SERS 測定

飽和トルエン水溶液のラマンスペクトルを図 5 にまとめる。図 5(a)に示すように、2-3 で示した測定条件において、SERS 基板なしではラマンピークは観測されなかった。それに対して SERS 基板を用いると、金属ナノ表面での電場増強効果により、同じ測定条件でも図 5(c)のように、鋭いラマンピークが観測された。測定位置を変えながら 4 回測定を行ったが、いずれの測定においても同様のラマンスペクトルが得られた。

図 5(d)にトルエンのラマンスペクトルを示す。これを図 5(c)と比較すると、SERS 基板を用いて観測されたスペクトルピークはトルエン由来のものであることが分かる。表面プラズモンによって銀ナノ表面に大きな増強電場が形成され、その増強電場で照射されたトルエン分子が大きなラマン信号を生じたと考えられる。また SERS 基板を用いて観測された飽和トルエン水溶液のスペクトルは、信号強度は小さいが、トルエン由来のラマンピーク以外のものも含んでいる。これらのピークは図 5(b)の基板のみのラマンスペクトルと比べることにより、SERS 基板から生じたものと分かる。したがって、銀ナノ粒子表面に残っているクエン酸やアルキルアミン由来のラマン信号であると推測する。以上の結果から、水溶液中に存在する 5.1 mM のトルエン分子は、SERS 分光法により、容易に検出・同定を行えるといえる。

3-3. 5 mM のトルエン水溶液とは

現在、トルエンの Occupational Exposure Limits (OEL) は 188 mg/m^3 、つまり 1.0 L 中に 0.188 mg と定められている¹⁰。それに対して、本研究で測定した飽和トルエン水溶液(5.1 mM)は、1.0 L 中に約 470 mg トルエン分子を含んでいる。水溶液中か大気中かの違いはあるが、単純に 1.0 L 中に存在する分子を比較すると、飽和トルエン水溶液中のトルエン濃度は、OEL で定められたものよりも 2500 倍も高い値である。しかしながら、今回得られた結果は、レーザー出力や表面プラズモンによる膜表面の増強電場を最適化することによって、2500 倍希釈した飽和トルエン水溶液を用いてもトルエンを検出できることを示唆している。具体的には、膜を構成する銀ナノ粒子サイズを大きくして、膜のプラズモン共鳴波長を約 40 nm レッドシフトさせ、励起レーザー強度を 100 倍にすることにより、2500 倍のラマン信号の増強を達成できる。

4. まとめ

本研究では、水中油滴型エマルジョンを利用して、銀ナノ粒子の自己組織化膜を作製した。作製した自己組織化膜は 524 nm にプラズモン共鳴を持ち、532 nm

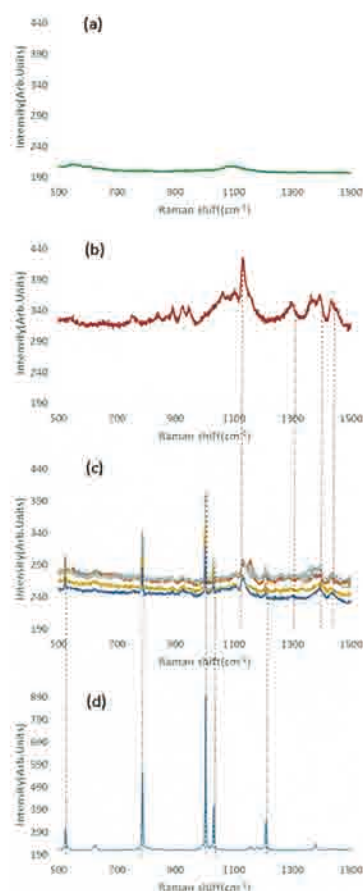


図 5 (a)飽和トルエン水溶液 [SERS 基板なし], (b)SERS 基板表面, (c)飽和トルエン水溶液 SERS 基板], (d)トルエン溶液のラマンスペクトル

のレーザーを励起源とした表面増強ラマン計測に用いられた。試料には、飽和トルエン水溶液を用いたが、ガラス基板だけの場合には、トルエン分子由来のピークは観測できなかった。一方、作製した銀ナノ粒子自己組織化膜を用いて、測定場所を変えながら同じく飽和トルエン水溶液のラマン測定を行ったところ、測定毎に同じようなラマンピークが再現性良く得られ、それらのピークはトルエン由来であることが分かった。以上の結果から、銀ナノ粒子自己組織化膜を用いた SERS 分光法により、5 mM のトルエンの検出・同定が容易に行えることを示せた。今後は、照射レーザー強度や表面プラズモンによる膜表面の増強電場をより精密に制御し、大気中に存在する、より低濃度の VOCs の検出を目指して研究を展開する。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なご支援をいただきました財団法人八雲環境科学財団に深く感謝申し上げます。

参考文献

- (1) 公害防止の技術と法規編集委員会, 新・公害防止の技術と法規 大気編 I , 124-127(2008)
- (2) 公害防止の技術と法規編集委員会, 新・公害防止の技術と法規 大気編 II , 205-209(2008)
- (3) 梅沢喜夫・澤田嗣郎・中村洋 (監修者), 花田喜文 (編著者), 最新の分離・精製・測定法—原理から応用まで—, 22-38・921-922 (1997).
- (4) 尾崎幸洋・山本博司, ラマン分光法による高感度ガス分析とその応用, 第 25 巻第 10 号, 697 (1997)
- (5) K. A. Willets, R. P. Van Duyne, *Annu. Rev. Phys. Chem.* **58**, 267–97 (2007).
- (6) [https://www.wrs.waseda.jp/seeds/ja/researchSeeds/detail/2014-0122-02#prettyPhoto\[material\]/1/](https://www.wrs.waseda.jp/seeds/ja/researchSeeds/detail/2014-0122-02#prettyPhoto[material]/1/)
- (7) K. Yoshida, T. Itoh, H. Tamaru, V. Biju, M. Ishikawa, Y. Ozaki, *Phys. Rev. B* **81**, 115406 (2010).
- (8) Y. Wan, Z. Guo, X. Jiang, K. Fang, X. Lu, Y. Zhang, N. Gu, *J. Colloid. Int. Sci.* **394**, 263–268 (2013).
- (9) 武安伸幸, 香川龍恭, 金田隆, 特願 2015-35503.
- (10) Eiji Yano (Chairperson), *J. Occup. Health.* **55**, 422–441 (2013).

魚類群集を指標生物とした河川の水環境の評価

岡山理科大学 生物地球学部 生物地球学科

武山智博

1. はじめに

平野部を流れる河川は、市民にとって最も身近な自然環境の一つである。水環境としての河川は多面的に捉えられてきたが、近年は生態学的な要因とともに人間活動の影響も考慮した「河川健康度」の評価も試みられている（Karr 1999）。一般的に河川の水環境評価は化学的な水分析、例えば COD（化学的酸素要求量）や DOC（生物的酸素要求量）に基づく（津田 1964）。いずれも水中の有機物の酸化や分解に必要な酸素量を計測して、いわゆる「水の汚さ」を示す客観的基準を提供するが、専用の測定機器や試薬類が必要な点では一般市民の分析は難しい。

河川に生息する生物に目を向けると、種ごとに生息場所の環境（ニッチ）が異なる事を利用し、ある環境に出現する生物を水環境評価の基準として利用できる。このような生物を指標生物とよび、カゲロウやトビケラなどの水生昆虫やウズムシ（プラナリア）などの底生無脊椎動物が代表的な生物である（谷田 2011）。この方法では、ある調査地点に出現した指標生物種の個体数に基づいてスコアを計算し、その値から水質を階級ごとに区分し水環境の評価を行う（津田、森下 1974）。これらの指標生物を用いた水環境評価は、採集の容易さにおいて化学的な水測定に比べ格段に優れた点があるが、水生昆虫は一般的に小型の種が多く、種同定には実体顕微鏡やある程度の専門的知識が要求され、簡便さの点ではやや難がある。一方、より市民に親しみのある水生動物に、釣りの対象や水辺遊びで捕らえられる魚類が挙げられるだろう。河川に生息する魚類は、イワナとヤマメに見られる「すみわけ」という現象で知られているように、生息環境ごとに出現する種が異なる。しかし、従来、魚類は水生昆虫に比べると移動性が高く適応できる水質の幅も広いため、水環境の指標生物としては不向きであると捉えられ、水生昆虫などの指標生物によって評価された水質と出現する魚類の関係については検討されていない。そこで本研究では、岡山市内の市街地を縦断する笹ヶ瀬川の複数の地点において野外調査を実施し、底生動物と魚類のサンプリングに基づき、1) 指標生物の水生昆虫に基づく水質の評価、2) 出現する魚類の種数・個体数の関係の検討、3) 1) と 2) の対応関係を検討した。これらから、簡便な水質の指標生物としての魚類の有用性について考察を加えた。

2. 方法

2-1. 調査地と調査期間

岡山県岡山市北区を流れる笹ヶ瀬川を調査地とした。調査地点は笹ヶ瀬川の中流に当たる地域において、平成 26 年 6 月に行った予備調査に基づき次の 3 地点を設けた。それぞれ、岡山市北区津島京町・岡山商科大学付近に地点 A、北区横井上・香橋池付近に地点 B、北区栢谷・香和中学校付近に地点 C である。さらに各地点に、それぞれ 10m の長さを持つ 3 つの調査区画（例えば A-1、A-2、A-3）を設置した。調査期間は、平成 26 年 7 月中旬から 12 月中旬である。およそ 1 週間毎に 1 地点の調査の頻度で計 4 回の現地調査を行った。調査期間はそれぞれ、1 回目が 7 月中旬～8 月下旬、2 回目が 8 月下旬～9 月下旬、3 回目が 10 月上旬～11 月上旬、4 回目が 11 月中旬～12 月中旬である。

2-2. 魚類と底生動物の採集と環境要因の測定

各調査地点に設けた 10m の調査区画内に、底面が 50cm×50cm のサーバーネット（網の目合 0.3 mm）を設置し、石や礫の表面に棲息する底生動物を採集した。これを 1 つの調査区画内に 5 つ設けた。採取された底生動物は、70%エタノールで固定して研究室に持ち帰り、出来るだけ細かい分類区分まで同定した。今回はより簡便な方法として、5 つ設置したサーバーネットで採集された種ごとの底生動物の出現個体数を地点毎に合計して求めた。魚類は各区画内にてタモ網を用いて採集した。採集に費やす労力（努力量）を統一するため、採集にあたっては、2 人で 30 分間の捕獲に揃えた。採集された魚類は、同定して種名と個体数を記録した後、捕獲地点で放流した。現地での同定が難しい場合には、生かしたまま研究室に持ち帰って同定を行った。その場合、魚は採集地点にて後日放流された。また、調査区内の水深、水温、濁度、pH、溶存酸素量(DO)を測定した。底質はサーバーネットを設置した 50cm×50cm 内にて、砂、砂利、(小)石、拳大の石、特大の石、水草、落葉のカテゴリーに分け、それぞれが占める割合(%)を記録した。

3. 結果および考察

3-1. 魚類と生息環境の関係

全調査を通じ、魚類は 21 種 1146 匹採集された（魚種については表 2 を参照）。水温、水深、水質（濁度、pH、溶存酸素量(DO)）と出現した種ごとの魚類の個体数の関係には一貫性がなく、対応関係が認められなかった。従って、ここでは、これらの環境要因と魚類の分布に関する詳細な検討は省略した。

底質には地点間で違いがあり、地点 A の主な底質は砂、地点 B は石、地点 C は特大の石であった(図 1)。出現した魚類を底生魚（主にハゼ科、ドンコ科、ナマズ科、コイ科のうちコウライ

ニゴイとカマツカ)と遊泳魚(サンフィッシュ科、コイ科、メダカ科)に分けると、個体数の割合は、地点Aでは底生魚、地点B、Cでは遊泳魚が多いという傾向が見られた(図2)。地点毎に出現魚類と底質の関係をみると、底質の粒径が大きくなるに従って底生魚の割合が少なくなっていた。底生魚のヨシノボリ類は石の下やそれらの隙間に身を潜め隠れ家とする。石が多い地点Bや粒径の大きい石が多い地点Cでは、石と石の隙間があまりなく、隠れる場所が少ないと考えられる。一方、地点Aでは砂や石と石の隙間が多く、また砂を掘り石の下に空間を作ることができることから、個体数が多かったと考えられる。対照的に遊泳魚は地点BとCで比較的多く出現していた。遊泳魚にとっては、ある程度大きな基質を隠れ家などに利用できるため、これらの2地点がA地点に比べると生息環境としては適していたのかもしれない。笹ヶ瀬川においても、井上と中野(1994)が指摘しているように、河川内の構造物が出現する魚類との対応があったものと考えられる。

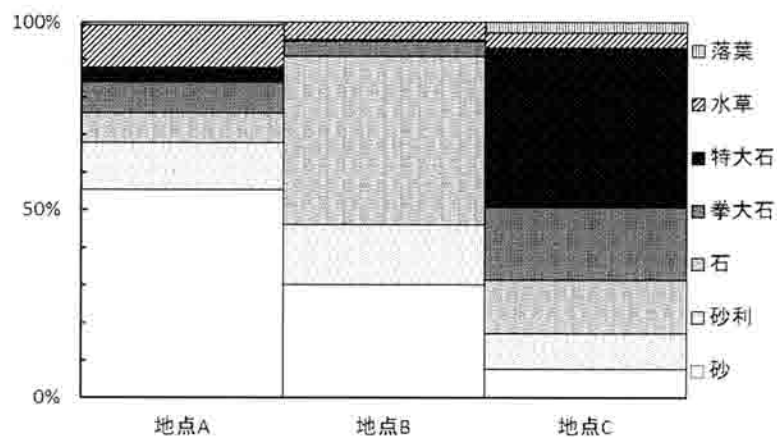


図1 調査地点毎の底質の比較

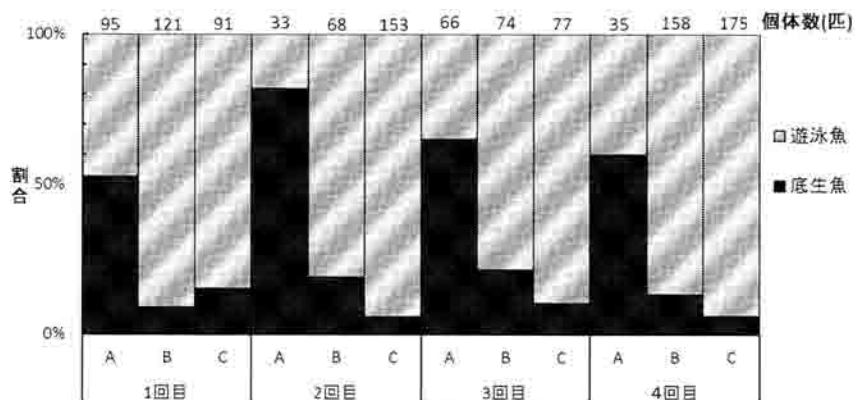


図2 個体数に基づく調査地点(A、B、C)毎の遊泳魚と底生魚の割合

3-2. 底生動物による水質評価

全調査を通じ、底生動物は37種 2375匹採集された。出現した主な底生動物は二枚貝のシジミ、巻き貝のカワニナ、カゲロウ目やコウチュウ目などの水生昆虫やイトミミズやユスリカの幼虫などであった。

津田と森下(1974)は水質汚濁の段階を、汚濁がすすんだ方より、「強腐水性」、「 α 中腐水性」、「 β 中腐水性」、「貧腐水性」の4つに区分し、それぞれの段階に対応し出現する底生動物を「汚水生物学的指標生物表」にまとめている。これに基づき、今回得られた底生動物の内から「指標生物」を抽出して、各調査の調査地点毎に指標生物の個体数を集計した(表1-1、1-2)。この表に基づき、主として優占種の出現状況から地点毎の水質階級を各調査で定めた(地点毎の水質階級については表2を参照)。なお、同一地点においても、複数の水質階級にまたがる場合がある。また、全調査を通じて、最も汚濁が進んだとされる「強腐水性」と評価された地点は出現しなかった。

3-3. 底生動物に基づく水質と出現した魚類との関係

次に、3-2.において指標生物から求めた各地点の「水質区分」と出現した魚類との対応関係を検討した(表2)。なお、同一調査期間において1つの水質区分に2地点が該当した場合には、個体数は平均値を示した。その結果、多くの種では、水質区分と出現個体数の対応関係は見られなかった。しかし、ハゼ科トウヨシノボリ、コイ科のモツゴ・オイカワ・カワムツの4種では、出現個体数も比較的多く、水質区分と出現個体数について関連が認められた。まずトウヨシノボリは、「貧腐水性から β 腐水性」あるいは「 β 腐水性」の場所に多く、「貧腐水性」の場所にはほとんど出現していないことから、「 β 腐水性」の水質区分に対応する種であることが示唆された。本種は止水域にも分布することから、比較的汚染に強いのかもかもしれない。次に、コイ科のモツゴ・オイカワ・カワムツの3種は、水質区分と出現個体数パターンにおいて類似した傾向があった。すなわち、どの種も「貧腐水性」あるいは「貧腐水性から β 腐水性」にほとんどが出現するものの、「 β 腐水性」では出現していなかった。これらは、「貧腐水性」あるいは「貧腐水性から β 腐水性」に対応する種であることが示唆された。従って、上述の4種の魚類に関しては、水環境を示す「指標生物」として用いることができる可能性があると考えられた。

まとめ

本研究では、生息場所の水質を示す「指標生物」としていくつかの魚種が有用である可能性を見出すことができた。しかしながら、今回設定した調査地では、4つの水質区分のすべてが出現しておらず、各水質区分に対応する出現魚種の検討が十分とは言えず、また他の河川においても同様の傾向が認められるかどうかも含め、今後の研究が必要である。

表1-1 地点A～Cに出現した水質階級毎の水生生物(指標生物)の個体数

水生生物	水質階級	1回目			2回目		
		地点A	地点B	地点C	地点A	地点B	地点C
カワニナ	貧腐水性	1	26	19	20	119	5
ナガレトビケラ科	貧腐水性	—	—	1	—	—	—
ヒゲナガトビケラ科	貧腐水性	—	—	3	—	—	1
ニンギョウトビケラ属	貧腐水性	3	1	41	—	2	30
グマガトビケラ	貧腐水性	—	—	3	—	—	—
モンカゲロウ属	貧腐水性	2	—	19	—	1	—
ヒラタカゲロウ科	貧腐水性	—	2	28	—	6	18
コカゲロウ科	貧腐水性	1	—	2	15	6	1
ヒメフタオカゲロウ科	貧腐水性	—	—	—	—	—	—
カワトンボのヤゴ	貧腐水性	—	—	—	—	—	1
プラナリア	貧腐水性	—	—	1	—	—	1
ブユ	貧腐水性	—	—	—	—	—	—
シジミ	β -中腐水性	—	7	4	86	57	—
ドブガイ	β -中腐水性	—	—	—	—	1	—
ヒメトビイロカゲロウ	β -中腐水性	—	—	10	—	—	3
キイロカワカゲロウ	β -中腐水性	—	—	—	4	1	—
ヒラタドロムシ属	β -中腐水性	—	1	58	1	3	47
コオニヤンマ	β -中腐水性	1	—	1	—	—	1
ヒル	α -中腐水生	4	20	10	11	10	1
タニシ	α -中腐水生	—	—	—	—	1	—
ミスムシ	α -中腐水生	2	—	11	4	1	—
ユスリカ幼虫	強腐水性	—	3	40	4	26	1
イトミミズ	強腐水性	—	7	23	—	6	—

表1-2 地点A～Cに出現した水質階級毎の水生物(指標生物)の個体数

水生生物	水質階級	3回目			4回目		
		地点A	地点B	地点C	地点A	地点B	地点C
カワニナ	貧腐水性	23	165	28	27	103	38
ナガレトビケラ科	貧腐水性	—	—	—	—	—	—
ヒゲナガトビケラ科	貧腐水性	—	—	—	—	—	—
ニンギョウトビケラ属	貧腐水性	—	—	—	—	12	—
グマガトビケラ	貧腐水性	—	—	—	—	—	1
モンカゲロウ属	貧腐水性	—	5	—	—	5	4
ヒラタカゲロウ科	貧腐水性	—	1	74	—	1	112
コカゲロウ科	貧腐水性	13	1	7	3	—	6
ヒメフタオカゲロウ科	貧腐水性	—	—	4	—	—	1
カワトンボのヤゴ	貧腐水性	5	—	—	—	—	—
ブラナリア	貧腐水性	—	—	2	1	—	2
ブユ	貧腐水性	—	—	—	—	—	1
シジミ	β -中腐水性	79	96	5	75	102	19
ドブガイ	β -中腐水性	1	—	—	—	1	—
ヒメトビイロカゲロウ	β -中腐水性	—	—	34	—	—	1
キイロカワカゲロウ	β -中腐水性	4	1	—	—	—	—
ヒラタドロムシ属	β -中腐水性	1	5	110	1	8	64
コオニヤンマ	β -中腐水性	2	3	—	—	—	—
ヒル	α -中腐水生	12	5	4	3	3	12
タニシ	α -中腐水生	—	3	—	3	—	—
ミズムシ	α -中腐水生	6	4	1	7	23	14
ユスリカ幼虫	強腐水性	15	18	17	—	1	7
イトミミズ	強腐水性	—	13	—	—	5	18

表2 調査地点毎の水質と採集された魚類の個体数

	1回目		2回目		3回目		4回目		
	貧腐水性 A-1	貧腐水性-β腐水性 B-1, C-1	貧腐水性 B-2, C-2	β腐水性 A-2	貧腐水性-β腐水性 B-3, C-3	β腐水性 A-3	貧腐水性 C-4	貧腐水性-β腐水性 A-4, B-4	
スズキ目		45	11	18	7	1	15	1	5.5
ハゼ亜目									
ハゼ科									
オオヨシノボリ									
トウヨシノボリ		0	17.5	1.5	17	0	18	0	3
カワヨシノボリ		1	4.5	3	1	2	8	0	0
クロヨシノボリ		0	1.5	0	1	0	2	0	0
ヌマチチブ		2	0.5	0	1	0	0	0	0
ドンコ		0	0	2	0	7	0	9	5
ドンコ亜目									
ドンコ科									
サンファイッシュ科		3	7	2	1	0	13	0	0
ブルーギル									
オオクチバス		1	0.5	0	1	0	0	0	0
ナマス目									
ナマス科		1	0	0	0	0	0	0	0
ナマズ		1	0	0	0	0	0	0	0
ギギ		1	0	0	0	0	0	0	0
ムギツク		7	0	0.5	0	3	0	1	0.5
モロコ属稚魚		20	1	3	0	5.5	2	0	2
モツゴ		0	0	2.5	0	10.5	0	0	9
オイカワ		0	0	13	0	12.5	0	24	3.5
カワムツ		0	0	75.5	0	30	0	139	53.5
ギンブナ		14	0	1.5	0	2	0	0	1.5
タイリクバラタナゴ		0	0.5	0	1	0	0	0	0
カネヒラ		0	0.5	0	0	0	1	0	0
コウライニゴイ		0	0	0	0	0	0	0	0.5
カマツカ		0	0	1	0	2	0	1	7.5
メダカ目									
メダカ科		0	5	1.5	3	0	7	0	5

謝辞

本研究は、公益財団法人 八雲環境科学振興財団による平成 26 年度環境研究助成（一般研究）を受けて実施した。また、本研究の内容の一部は、岡山理科大学総合情報学部生物地球システム学科の福本真依と山口展央の両氏が行った卒業研究に基づくものである。ここに記して謝意を表す。

引用文献

- Karr (1999) Defining and measuring river health, *Freshwater biology*, 41, 221-234
- 井上幹夫・中野繁(1994)小川の物理的環境構造と魚類の微生息場所 日本生態学会誌、44 巻、151-160
- 谷田一三(2011) 河川環境の指標生物学 北隆館
- 津田松苗(1964) 汚水生物学、北隆館
- 津田松苗・森下郁子 (1974) 生物による水質調査法、山海堂

大気環境汚染物質の太陽光曝露による新規遺伝毒性・発癌性

岡山大学 大学院医歯薬学総合研究科 薬学系

有元 佐賀恵

1. はじめに

大気汚染は国際的な広がりを持ち、例えば中国で発生した汚染物質が数日～数ヶ月をかけて日本まで渡ってくるといった広域移動をしており、その間に上空で太陽光を浴びて共存の汚染物質(有機化合物や NO_x ガスなど)と反応して化学変換し、遺伝毒性物質や発癌性物質に変換する可能性があると考えられる。光化学反応では通常の化学反応とは異なる反応経路・異なる反応産物を与えることが多く、発生源で汚染物質データからモニタリングした場合、新規の光反応産物は見落とされている可能性が高い。遺伝毒性や発癌性などの生物活性は、化学構造変化により活性が 10 倍～100 倍といった桁での大幅な変化をすることも多く、新規の強い有害物質を見落としている可能性もある。既報では、不完全燃焼煙に含まれる発癌性物質ベンツ[a]ピレンや環境汚染物質ジベンゾカルバゾールに光変異原性が報告されている^{1,2)}。また環境汚染物質について、発生源と日本到達時での量的変化を追求した研究は多数行われており、重要な研究であるが、大気滞留時間が数日～数ヶ月以上と長いことを考えると、無変化で海を渡るだけではすまないと考えられ、新規遺伝毒性獲得や遺伝毒性の増悪といった、より有害性の高い方向へ変化する可能性がある。

医薬品においても光安全性はそれほど注目されていないが、実際には臨床現場における副作用としての光毒性は、日常広く使われている医薬品で報告されている。例えば、高血圧治療薬のクロロチアジド、抗精神病薬のクロルプロマジン、非ステロイド性抗炎症薬ケトプロフェン、フルオロキノロン系抗菌薬や抗生物質テトラサイクリン、経口血糖降下薬等、いくつも挙げるができる³⁾。これらはヒトの皮膚を透過した太陽光で、経口投与された薬物にヒト体内で光反応が起きた結果であり、皮膚を透過した後の弱い光でも十分光反応を起こし光線過敏症を発症することを意味する。従って、上空のような太陽光が十分に当たる環境では、大気汚染物質の光反応が高頻度に行っていると考えられる。

我々のこれまでの研究により、環境汚染物質の一つ、N-ニトロサミンが太陽光紫外線を吸収して光反応を起こし、一酸化窒素ラジカルを発生するとともに、アルキルラジカルなどの活性中間体に変換すること、DNA と反応してアルキル化付加体形成することを見出した⁴⁾。また、光毒性反応により、ヒト皮膚由来培養細胞が突然変異を起こすことを見出している⁵⁾。また、不安定なラジカルだけではなく長時間安定な新規変異原性物質が光反応により生成することを見出している。N-ニトロサミンのみならず、環境汚染物質にはベンゼン環や複素環、共役ニトロ基など近紫外光に吸収領域を持つ化合物が多数あり、太陽光紫外線を吸収してその光エネルギーにより光化学反応を起こす可能性がある。遺伝毒性を生じる光変化としては二つの機構が考えられる。一つは、化合物が光照射により化学変化して安定な遺伝毒性物質に変化する場合。もう一つは、光照射中に短寿命の活性化体、例えばアルキルラジカルや酸素ラジカル、を放出し、それら活性化体が光遺伝毒性を示す場合。この両方の場合を調査する必要があると考えられる。

本研究の目的は大気汚染物質として知られる各種の化合物が、浮遊中の太陽光曝露により光化学変化を起こして、遺伝毒性物質に変換するかどうかを明らかにし、光反応により生じた遺伝毒性活性物質の構造解析、光反応による DNA との反応解析及び発癌性などの生物活性を明らかにすることである。

2. 実験方法

2-1. 試薬

ジベンズ[a,h]アントラセン、ベンゾ[b]フルオランテン、アクリル酸、O⁶-methylguanine、4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone (NNK)は市販品を購入した。構造式と分子量を図 1 に示した。ジベンズ[a,h]アントラセン、ベンゾ[b]フルオランテンは水に溶けないので、アセトニトリルに溶か

した。アセトニトリルが近紫外光(UVA : 320-400 nm)に吸収を持たないことを確認した。それ以外は水または生理食塩水に溶かした。タバコ副流煙は図2に示す装置をドラフトチャンパー内に組んで行った。一度に2本、5本または10本の紙巻きたばこを灰皿上でくゆらせ、立ち上る煙を空気ポンプ(流速400~450 mL/min)で吸引し、グラスフィルター(1枚)上に集めた。グラスフィルター(1枚)をアセトニトリル(1 mL)中で超音波抽出し、被験試料とした。

2-2. 大気環境汚染物質の光曝露による光遺伝毒性スクリーニング

サルモネラ菌を利用した変異原性スクリーニングにより光遺伝毒性を持つ化合物を探索した。太陽光のモデルとして、近紫外光ランプを用いた。

2-2-1) 化合物が光照射により化学変化して安定な遺伝毒性物質に変化する場合は試験(以下、照射後の光遺伝毒性: 図には after UVA irradiation と表示)

専用の照射チャンパーに被験溶液を入れ、チャンパー内温度20度にて振とうしつつ、320-400 nmの近紫外光(UVA)を27 kJ/m²照射した。そのうち、エイムス試験にて照射溶液と非照射溶液の遺伝毒性を比較した。遺伝毒性ガイドラインによれば、エイムス試験ではサルモネラ菌5菌株(TA100株、TA98株、TA1535株、TA97株またはTA1537株、TA102株または大腸菌株)を使い、代謝活性化する条件(以下、+S9)と代謝活性化しない条件(以下、-S9)両方での試験、すなわち10通りの組み合わせを推奨している⁶⁾。今回は、5菌株の試験は時間と費用がかかりすぎるので、3菌株(TA100株、TA98株、TA1535株)を用い、代謝活性化する条件(+S9)と代謝活性化しない条件(-S9)両方での試験を行った。被験濃度は、溶解度等の制限がなければ1 mMを最大濃度として、10倍希釈を5段階繰り返した濃度とした。変異原性の有無は、エイムス試験原法に従い、いずれかの濃度で、溶媒コントロール(陰性対照)と比較して2倍上となった場合を陽性とした⁷⁾。

2-2-2) 光照射中に短寿命の活性化体を放出し、それら活性化体が光遺伝毒性を示す場合は試験(以下、同時照射の光遺伝毒性: 図には simultaneous irradiation と表示)

照射チャンパーに、被験溶液とサルモネラ菌(TA100株、TA98株またはTA1535株をリン酸緩衝液(0.1 M Na₂PO₄, pH7.4)に懸濁したもの)との混合液を置き、温度20度にてUVA 20分(3 kJ/m²)照射したのち、処理サルモネラ菌の突然変異誘起を調べた。非照射コントロール(黒紙とアルミホイルで包んで同じ時間チャンパー内に置いたもの)と比較した。同時照射の場合は、代謝活性化に用いる酵素反応溶液が光吸収作用があって光反応を妨げるため、代謝活性化する条件(+S9)での試験は行わず、代謝活性化しない条件(-S9)での試験を行った。

2-3. DNAのメチル化解析

NNKの光活性化によるサルモネラ菌やヒト由来培養細胞DNAのメチル化損傷検出のための、解析方法としてLCMSMSを選び、条件検討した。LCMSMSはAPI 4000™ LC/MS/MSシステム(SCIEX)を用いた。

3. 結果・考察

3-1) 既知大気汚染物質の光変異原性スクリーニング

光遺伝毒性試験対象として、既知の大気汚染物質のうち、発癌リスクが高く、化学構造から光反応性が考えられる化合物を選んだ。まず、多環芳香環を持つジベンズ[a,h]アントラセン(DB[ah]A)とベンゾ[b]フルオランテン(B[b]F)を取り上げた。世界保健機関(WHO)の空気質指針の2000年改正版によれば、発がんリスクに基づくDB[ah]Aのユニットリスク(UR)は(1 μg/m³における値)として(8.7-10.4)×10⁻²、これは著名な発癌物質ベンゾ[a]ピレンのユニットリスク9×10⁻²に匹敵する。ベンゾ[b]フルオランテンのユニットリスクは(0.87・1.2)×10⁻²である。DB[ah]Aは、サルモネラ菌TA100株とTA98株に対して、代謝活性化あり(+S9)

の条件で、非照射でも変異原性を示したが、TA100 株と TA98 株の代謝活性化無し (-S9) および TA1535 株 (+S9、-S9 とも) の条件では変異原性を示さなかった (図 3-1)。DB[ah]A を UVA 照射した場合(+UVA)、照射後の変異原性は非照射サンプル(-UVA)との有意差がなかった (図 3-1)。また、DB[ah]A をサルモネラ菌と同時照射した場合も、照射サンプル (+UVA) の変異原性は非照射サンプル(-UVA)と比較して、有意差はなかった (図 3-2)。この場合、DB[ah]A は代謝活性化がなければ変異原性を示さない (図 3-1 の下半分) ので、非照射サンプルは変異原性を示さないと予想されたが、もし光活性化するなら、照射サンプルには変異原性があるのではないかと期待された。しかし、光変異原性は検出されなかった。

B[b]F についても、DB[ah]A と同じく、光変異原性スクリーニングを行った。B[b]F も、サルモネラ菌 TA100 株と TA98 株に代謝活性化あり (+S9) の条件で、非照射でも変異原性を示した。が、照射後の変異原性ならびに同時照射の変異原性ともに、照射と非照射サンプルで有意な差はなく、光変異原性は検出されなかった。データは補足データに示した。

大気汚染物質アクリル酸については、発癌リスクは WHO の記載がないが、ガイドラインとして時間平均値 54 ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)以下とされている。アクリル酸は、サルモネラ菌 TA1535 株に代謝活性化ありなし ($\pm\text{S9}$) の条件で非照射でも変異原性を示した (図 4-1)。照射と非照射サンプルで比較したところ、TA98 株で照射後(図 4-1)及び同時照射(図 4-2)、ともに差が見られた。但し、照射サンプルにおいても、TA98 株での変異原性は陰性対照の 2 倍を超えてはおらず、変異原性陽性とは言えない。しかし、非照射ではアクリル酸の毒性によりサルモネラ菌が致死するために、むしろ溶媒コントロールよりも変異コロニー数が減少しているのに対し、照射サンプルでは致死作用が抑えられているように見えるので、アクリル酸の光分解が起きて量的に減少した可能性がある。

3-2) タバコ副流煙の変異原性に対する UVA 照射の効果

タバコ副流煙を、2、5、10 本燃焼させた場合についてそれぞれ捕集し、変異原性を調べた。図 5-1 に 2 本を燃焼させた場合の副流煙の変異原性試験結果を示す。副流煙は、サルモネラ菌 TA100 株および TA98 株に対して、代謝活性化ありなし ($\pm\text{S9}$) とともに、非照射でも変異原性を示した。副流煙サンプルに UVA を照射した後の変異原性は、期待に反して、照射なしよりも変異原性が有意に減少した。タバコ 5 本および 10 本燃焼させた副流煙についても同様の実験を行ったところ、同様の結果が得られた。図 5-2 にはタバコ 2 本、5 本及び 10 本を燃焼させて得た副流煙成分、各 10 分の一をアッセイした場合の変異原性をグラフに示した。燃焼させた本数が多いほど、得られた変異原性は高くなる用量依存性を示した。どの場合も、UVA 照射した後の方が変異原性は低くなるという結果が得られた。

3-3 タバコ特異的ニトロサミン NNK の変異原性に対する UVA 照射の影響

これまでの研究で、N-ニトロサミンが太陽光紫外線を吸収して光反応を起こし、変異原性を生じることを見出しており、タバコ煙でむしろ変異原性が減少するのは、期待とは逆の結果となった。そこで、タバコ煙に含まれているタバコ特異的ニトロサミン NNK に対する UVA 照射の効果を調べたところ、同時照射で変異原性が生じるという結果が得られた (図 6)。非照射では変異原性は見られないので、光反応による活性化が起きたと考えられる。一方は活性減少、他方は活性化という違いがあるが、タバコ煙の場合は多種類の化合物の混合物であり、光活性化された化合物が共存する他の化合物と反応して消去された可能性がある。また、タバコ副流煙の方はまだ、同時照射による活性検出実験が間に合わず、これから行う予定であるので、同時照射ではむしろ活性増加が見られる可能性もある。また、大気中で希薄に存在する場合は共存化合物による消去よりも、光反応による活性化の影響の方が大きい可能性がある。

3-4 光活性化による DNA 損傷解析

NNK の光活性化スキームは図 5-2 のように考えられ、光反応により生じたメチルラジカルによるメチル化が細胞の DNA に起きると考えられる。そこで、NNK ならびにタバコ煙の光反応による DNA 損傷を解析す

べく LCMSMS 解析条件検討を行った。DNA 損傷モデルとして O⁶-methylguanine の検出条件検討を行ったところ、検出限界 0.01 pmole 以下で検出可能となっており、今後、実際のサンプルを解析する予定である。

4. 今後の発展

継続研究として、大気汚染物質の光遺伝毒性スクリーニングを行っている。また、平成 27 年 3 月末までには研究が間に合わなかったが、継続研究として、可視光によるタバコ煙の光反応研究、ならびに 300 – 600 nm の UVA/可視広範囲での単波長照射による光動力学研究を行い、光反応機構研究を行っている。さらに、光活性化による DNA 損傷の LCMSMS 解析も行っている。

今後さらに研究を進めることにより、環境汚染の光遺伝毒性への理解が深まることが期待される。

5. 謝辞

本研究は、八雲環境科学振興財団の助成により実施されたものである。ここに謝意を表します。

6. 参考文献

- 1) Toyooka T, Ibuki Y. 2007. DNA damage induced by coexposure to PAHs and light. *Environ Toxicol Pharmacol* 23: 256–263.
- 2) Sedlackova E et al. 2015. Ultraviolet A Radiation Potentiates the Cytotoxic and Genotoxic Effects of 7-H-Dibenzo[c,g]carbazole and Its Methyl Derivatives. *Environ Mol Mutagen* 56: 388-403.
- 3) Arimoto-Kobayashi 2014. Photogenotoxicity and photomutagenicity of medicines, carcinogens and endogenous compounds, (review), *Genes and Environment*, 36: 103-110.
- 4) Arimoto-Kobayashi S et al 2010. UVA activation of N-dialkyl nitrosamines releasing nitric oxide, producing strand breaks as well as oxidative damages in DNA, and inducing mutations in the Ames test, *Mutation Research*, 691: 47-54.
- 5) Mayumi Horinouchi M, Arimoto-Kobayashi S. 2011 Photomicronucleus assay of phototoxic and pseudophotoclastogenic chemicals in human keratinocyte NCTC2544 cells, *Mutation Research*, 725, 43-50.
- 6) International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use. 2011. ICH harmonised tripartite guideline, guidance on genotoxicity testing and data interpretation for pharmaceuticals intended for human use S2(R1). Current Step 4 version dated 9 November 2011.
- 7) Maron DM, Ames BN. 1983 Revised methods for the Salmonella mutagenicity test. *Mutat. Res.*, 113, 173–215.

図1,2

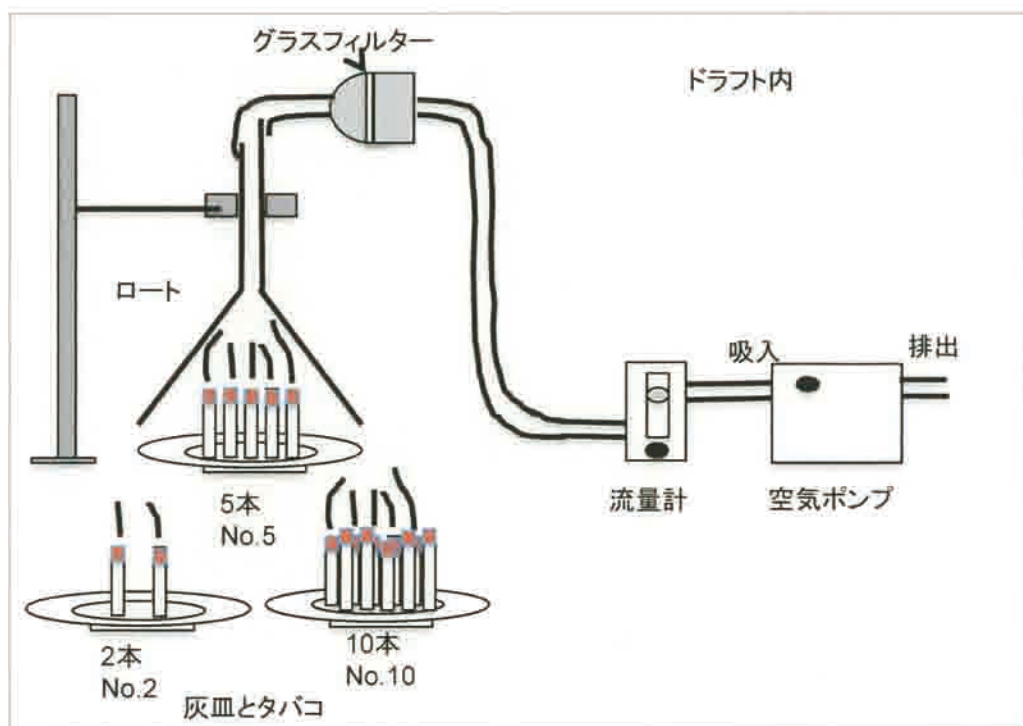
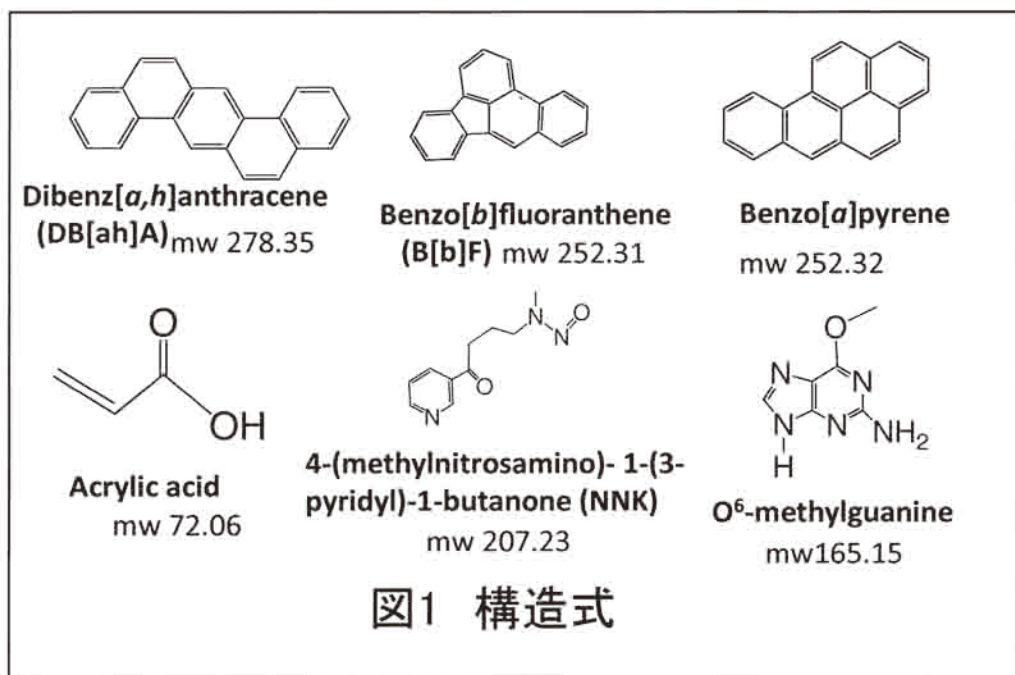
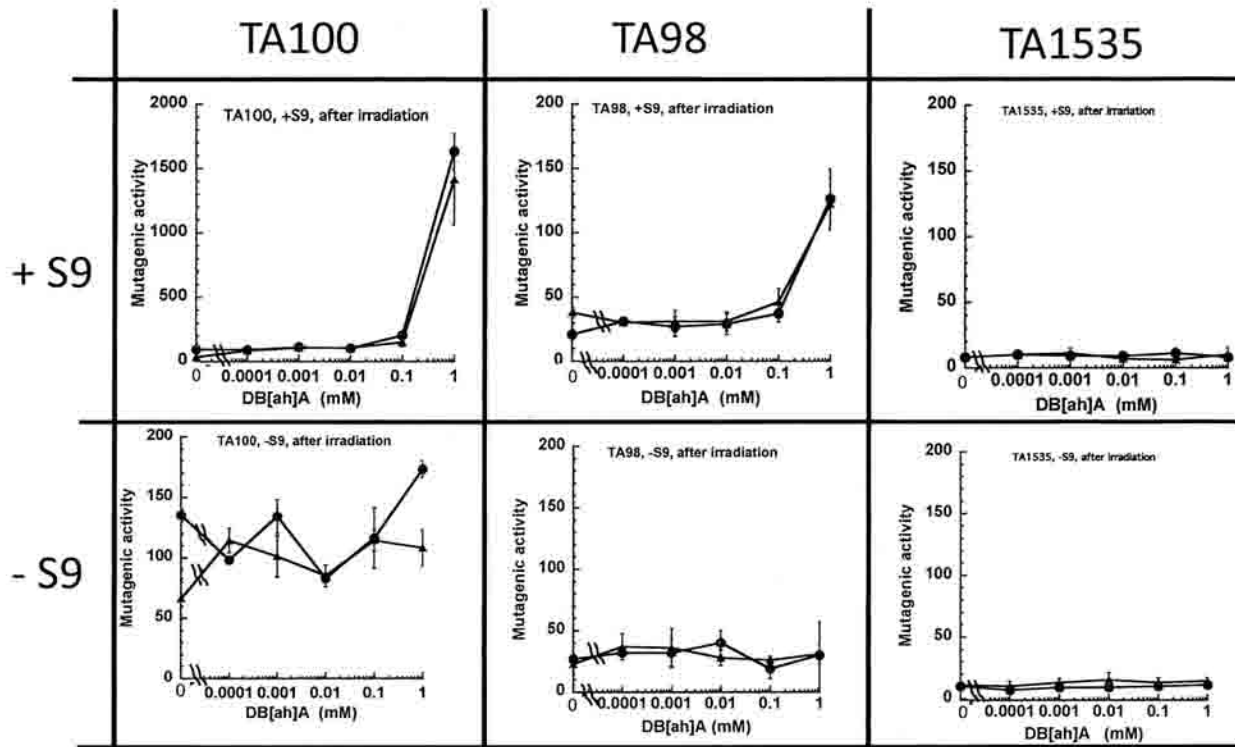


図2 副流煙の捕集方法

図3. DB[a,h]Aの変異原性に対するUVA照射の影響

3-1) Mutagenicity of DB[a,h]A after UVA irradiation ● : + UVA ▲ : - UVA



3-2) Mutagenicity of DB[a,h]A with simultaneous UVA-irradiation

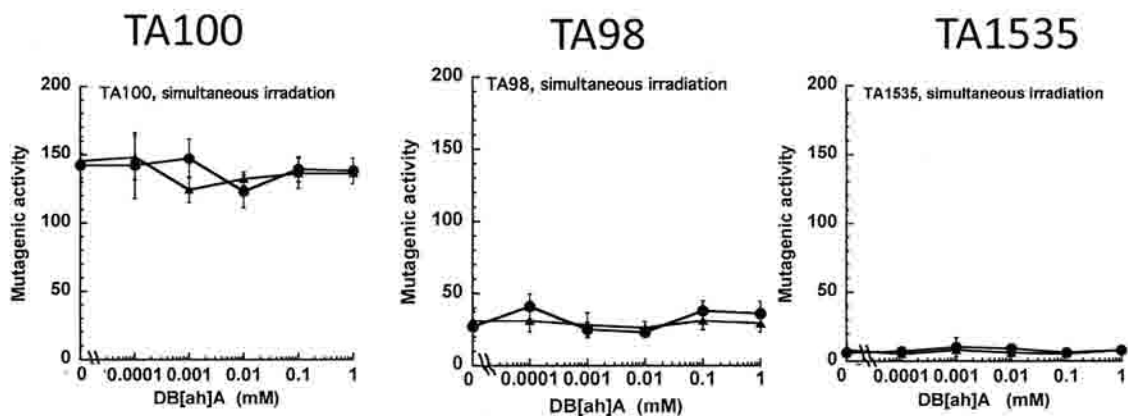
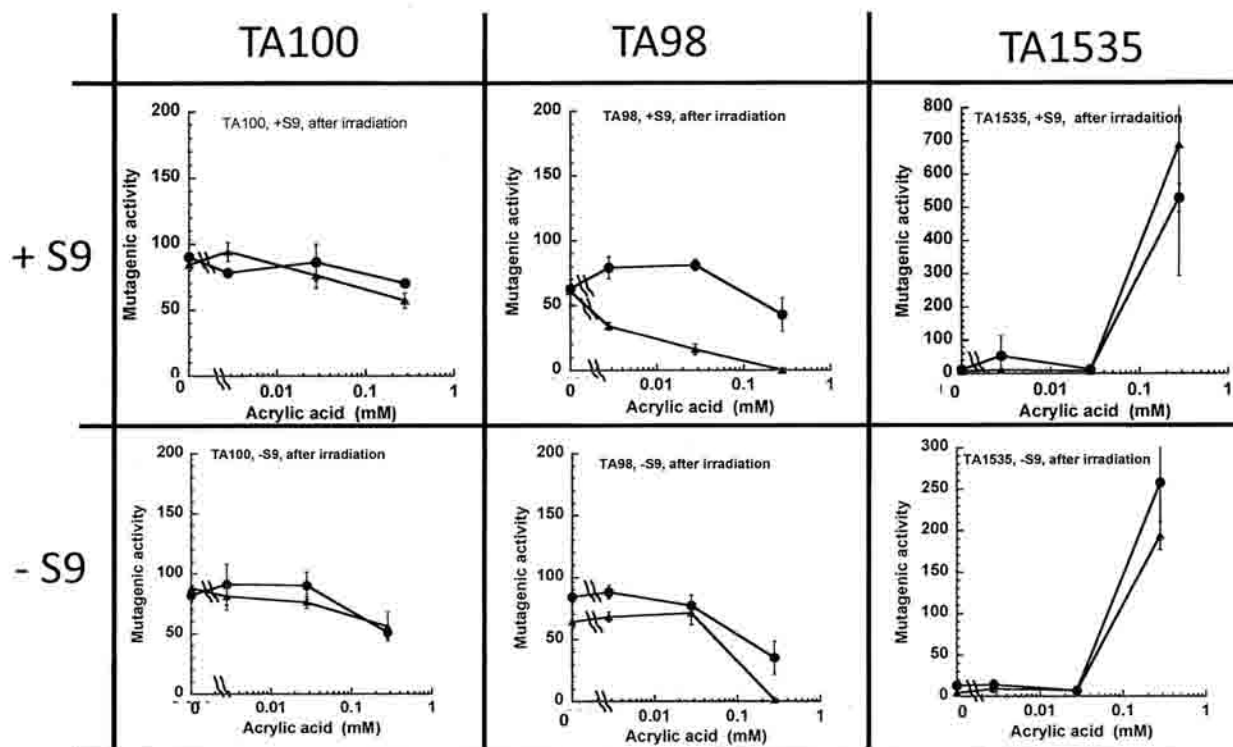


図4

アクリル酸の変異原性に対するUVA照射の影響

● : + UVA
▲ : - UVA

1) Mutagenicity of acrylic acid after UVA irradiation



2) Mutagenicity of acrylic acid with simultaneous UVA-irradiation

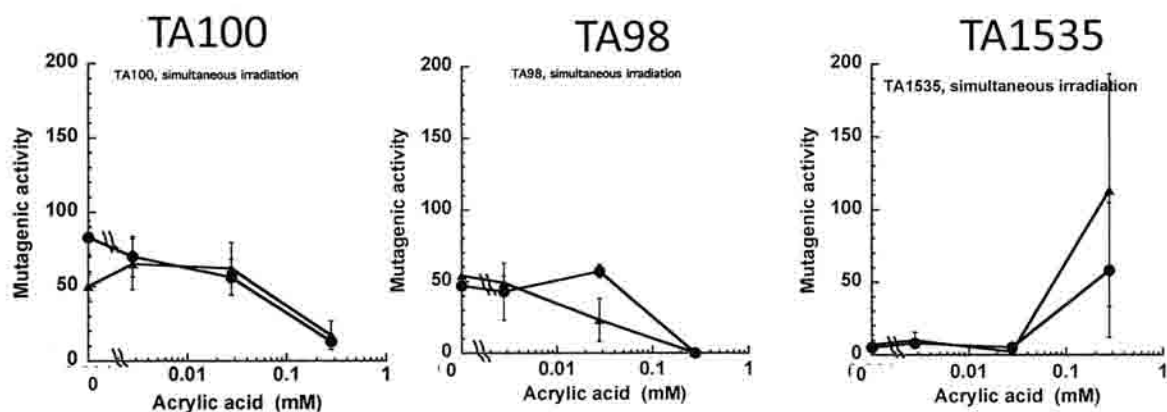
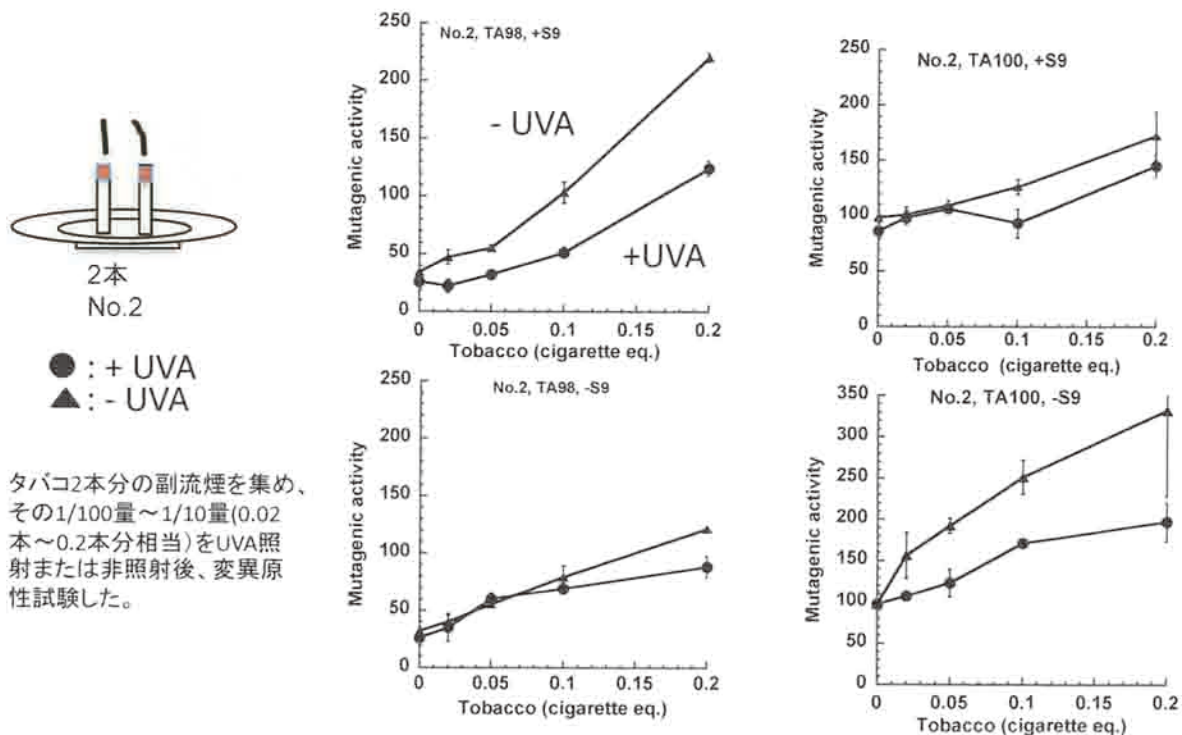
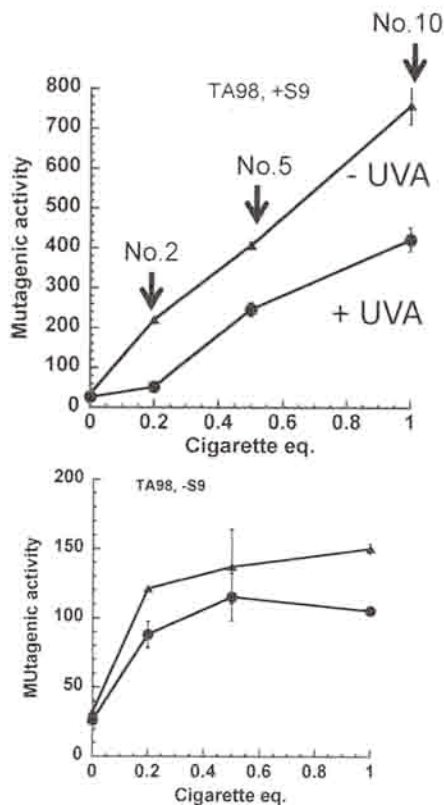


図5. タバコ副流煙の変異原性に対するUVA照射の影響

1) タバコ2本分の副流煙の変異原性 - UVAによる変異原性減少



2) タバコ2本, 5本, 10本分の副流煙の変異原性 - UVAによる変異原性減少



タバコ2本, 5本または10本分の副流煙を集め、その1/10量(0.2本, 0.5本, 1本分相当)をUVA照射または非照射後、変異原性試験した。

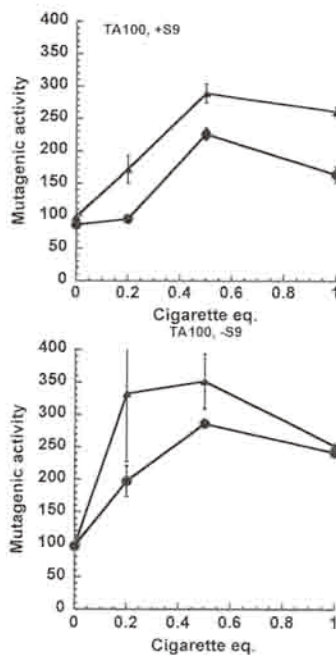
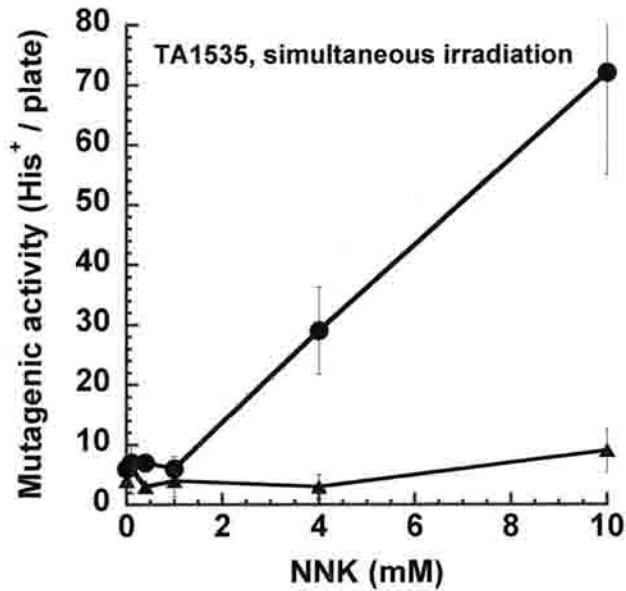
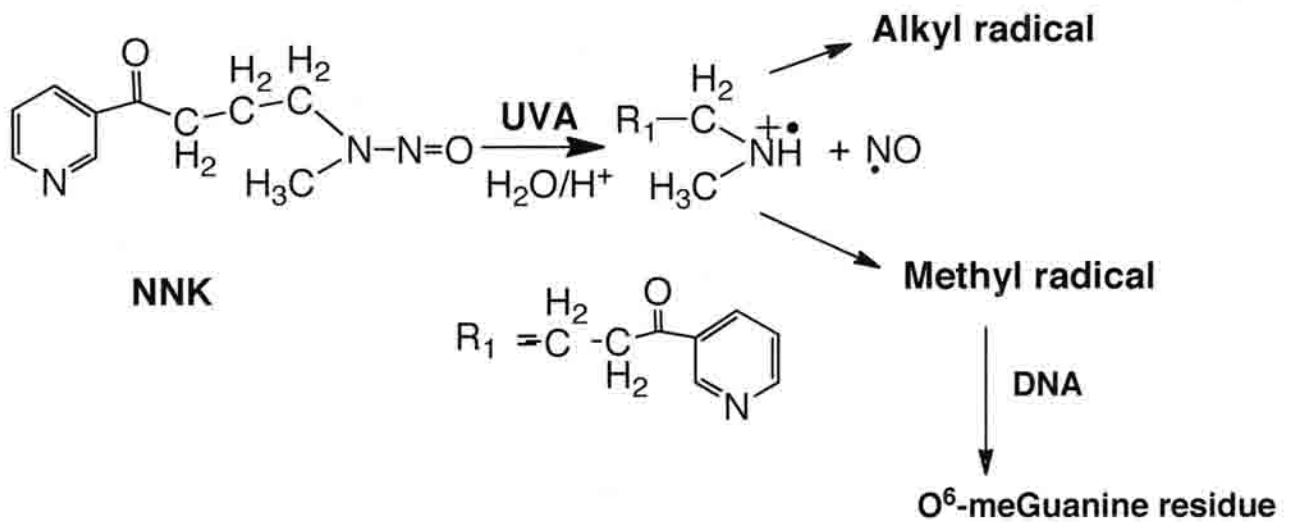


図6. NNK

1) NNKの変異原性に対するUVA照射の影響



2) NNKの光活性化スキーム

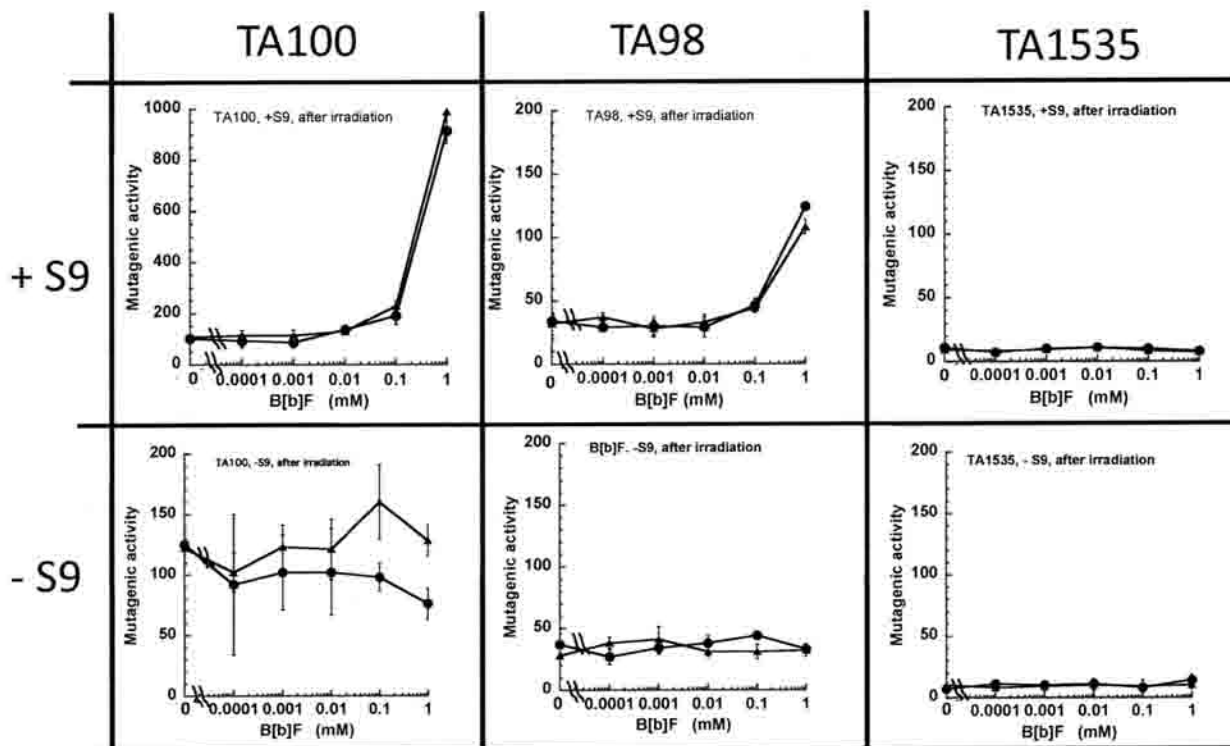


補足データ

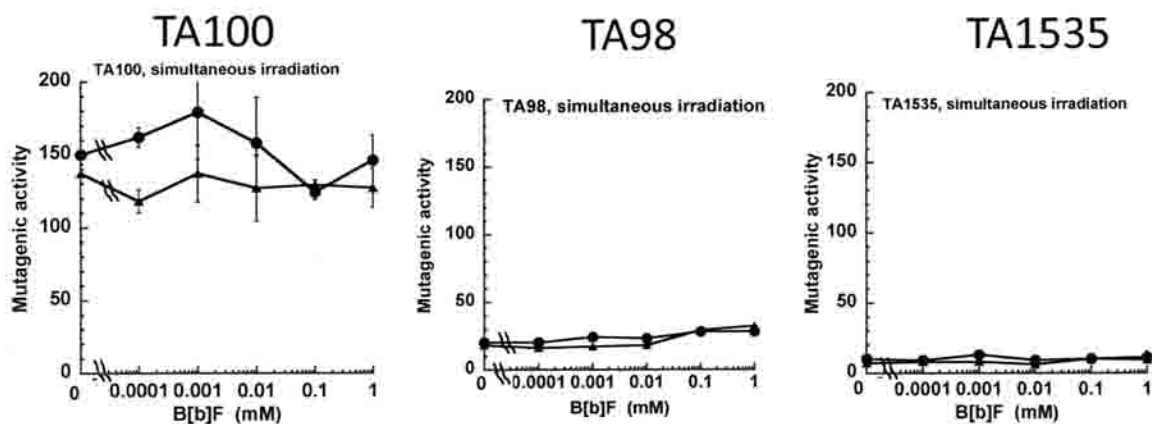
B[b]Fの変異原性に対するUVA照射の影響

● : + UVA
▲ : - UVA

1) Mutagenicity of B[b]F after UVA irradiation



2) Mutagenicity of B[b]F with simultaneous UVA-irradiation



有害野生動物の複数頭捕獲檻のゲート閉鎖装置の開発

津山工業高等専門学校 鳥家秀昭

1. 背景・目的

全国各地で有害野生動物による生活環境、生態系あるいは農作物の被害が深刻化し、農業者の生産意欲の減退や耕作放棄地の増加などの問題が顕著になっている。有害野生動物による農林水産被害額は、岡山県全体で約4億円に達している⁽¹⁾。また、農家の高齢化の進行や狩猟者数・捕獲従事者数の減少と相まって被害地域は年々広域化しており、対策は容易ではない。一方、複数頭捕獲檻では、最も効果的なタイミングでゲートを閉鎖することが重要である⁽²⁾。このため檻に進入した有害野生動物の自動計測および捕獲目標頭数の自動設定が可能な捕獲制御装置が市販されているが、高価で操作方法も複雑なため利用・普及は難しいと思われる⁽³⁾。

本研究では、低価格で機械や電気の専門知識がない捕獲従事者が使いやすいゲート閉鎖装置の開発に取り組む。既存の市販品と比べて大幅に安価なゲート閉鎖装置を実現することにより有害野生動物の捕獲・被害対策を促進し、農山村地域の環境保全・活性化に貢献する。

2. ゲート閉鎖装置

図1に有害野生動物の複数頭捕獲用の檻（囲いさく）を示す。檻の概略サイズは、縦×横×高さが8×4×2.5[m]で、ゲートの概略サイズは、幅が950[mm]、高さが610[mm]である。本研究では、このような檻に使用するゲート閉鎖装置を開発する。捕獲従事者は次のどちらかの捕獲モードで操作する。

- ① 自動でゲートを閉鎖する。
- ② リモコンや携帯電話の指令でゲートを閉鎖する。



図1. 複数頭捕獲用の檻

(1) 課題と解決策

ゲートに設置した透過型赤外線光電センサーとマイコンを用いて檻に進入した有害野生動物の自動計測を行い、事前に設定した捕獲目標頭数に達した時にゲートを自動で閉鎖する。また、檻に設置している携帯電話で遠隔地にいる捕獲従事者に有害野生動物が檻に進入した情報を通知する。

捕獲従事者はリモコンや携帯電話を操作してゲート閉鎖指令を送信し、複数頭捕獲を行う。また捕獲に成功したことを検知し、その情報を捕獲従事者に通知する。

具体的には、下記の①～④のとおり。

- ①檻に進入した有害野生動物の頭数カウントを行い、捕獲目標数に達すると自動でゲートを閉鎖する。
- ②檻の設置場所から遠隔地にいる捕獲従事者の携帯電話に有害野生動物が檻に進入した情報を通知する。
- ③遠隔地にいる捕獲従事者が携帯電話で指令を送り、檻のゲートを閉鎖する。
- ④有害野生動物が捕獲されたことを検知し、その情報を捕獲従事者の携帯電話に通知する。

(2) ゲート閉鎖装置の設計指針

本研究で開発するゲート閉鎖装置の設計指針を以下に述べる。

- ①檻に進入した有害野生動物の頭数をカウントする。有害野生動物の出入りを区別するために2ch透過型光電センサーを使用する。この光電センサーの出力信号をゲート閉鎖装置のマイコンに入力して、加算もしくは減算して記録する。
- ②檻に進入した有害野生動物の最大頭数を数日間、記録する。捕獲従事者は、数日間のデータを参考に設定した捕獲目標頭数を設定した後、捕獲を開始する。
- ③捕獲目標頭数の有害野生動物を捕獲する。ゲート閉鎖装置は、カウントした有害野生動物が捕獲目標頭数に達した時、自動で扉を落下させてゲートを閉鎖する。
- ④携帯電話に通知する。捕獲するか否かには無関係にカウントした有害野生動物頭数が捕獲目標頭数に達すると、ゲート閉鎖装置に設置した携帯電話から捕獲従事者の携帯電話に通知する。
- ⑤遠隔地からゲートを閉鎖する。遠隔地にいる捕獲従事者はリモコンや携帯電話を使って檻の扉を落下させてゲートを閉鎖する。

(3) 檻とゲート閉鎖装置の全体構成

図2(a), (b)に檻とゲート閉鎖装置の全体構成を示す。

- ① 檻
- ② 扉・ゲート
- ③ ゲート保持機構, 電磁石
- ④ 2ch透過型光電センサー
- ⑤ ソーラーパネル
- ⑥ 防水ケース(制御パネル, ソーラー充電器, バッテリー)
- ⑦ リモコン送信機
- ⑧ リモコン受信機

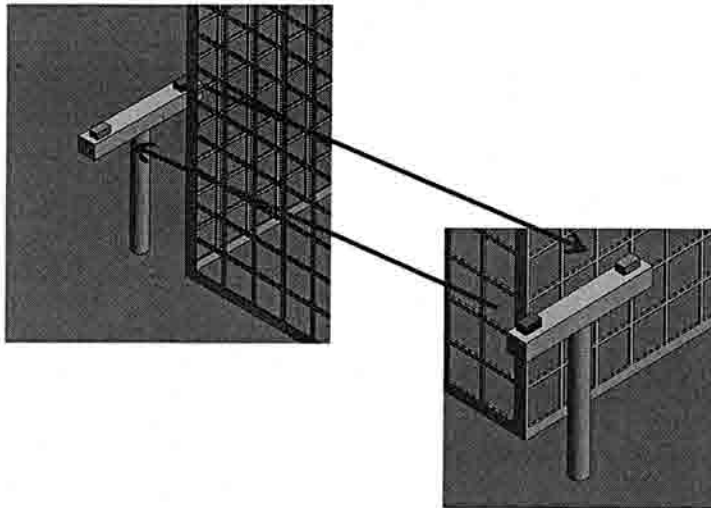
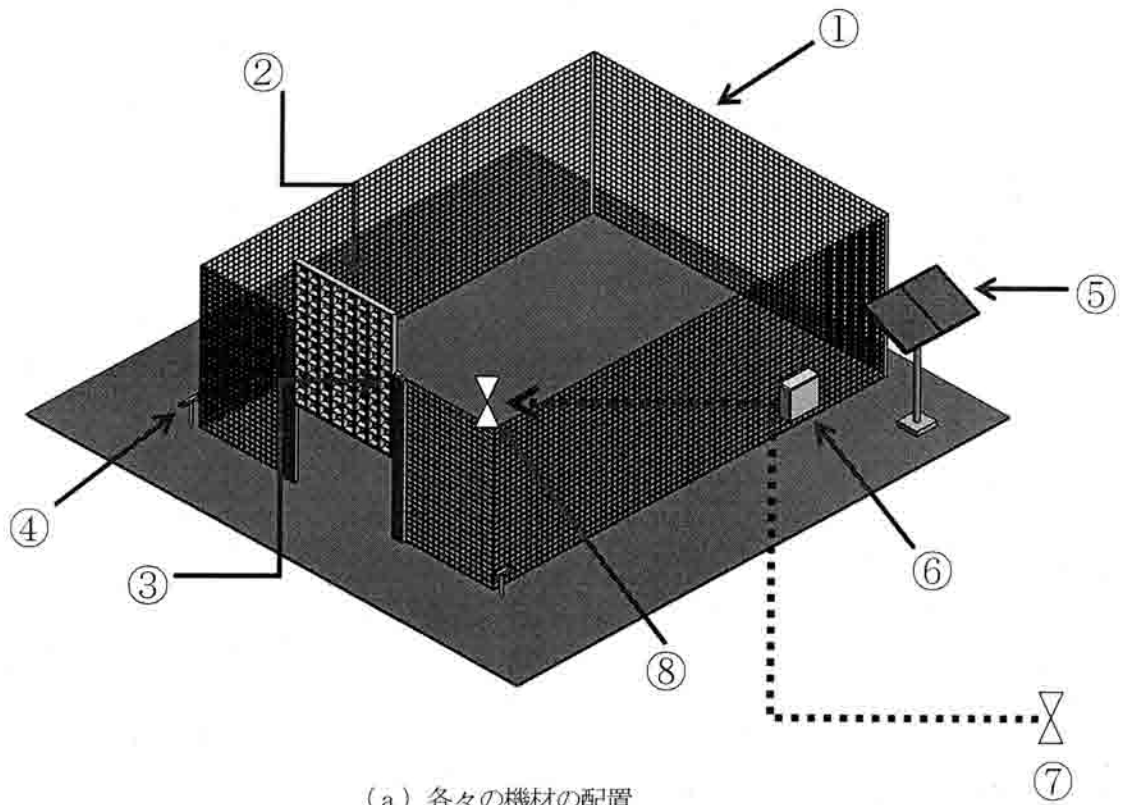


図2. 檻とゲート閉鎖装置の全体構成

(4) 遠隔制御用リモコン

図3にリモコンの送受信機を示す。電波が到達する最大距離は約150[m]である。商品名は電気錠用リモコンユニット (SECO-LARM製), 電源はDCまたはAC11~24[V], 送信機のサイズは, 幅: 51 [mm], 奥行: 33 [mm], 高さ: 11 [mm] で, 受信機のサイズは, 幅: 83 [mm], 奥行: 68 [mm], 高さ: 27.5 [mm] である。



図3. リモコン送受信機: (右) 送信機, (左) 受信機

(5) 電磁石を使用したゲートの扉の制御

図4に電磁石とゲートの扉を示す。ゲートを解放する時は, 扉を吊り上げたワイヤ (青色の矢印で示す) を電磁石と鉄板の間にはさんで固定する (赤色の円で囲まれた部分)。リモコンや携帯電話から送信する指令により電磁石の励磁を解除するとワイヤがリリースして扉が落下し, ゲートが閉鎖する。



図4. 電磁石とゲートの扉

(6) ゲート閉鎖装置の操作パネル

図5にゲート閉鎖装置の操作パネルを示す。この図において、①～⑥は以下のとおり。

- ① 電源スイッチ
- ② モードA(常時ON → 捕獲時OFF)とモードB(常時OFF → 捕獲時ON 0.5秒 → OFF)の切換え
- ③ 設定頭数以上でゲート閉鎖もしくは頭数減少時にゲート閉鎖の切換え
- ④ 透過型光電センサー用コネクタ
- ⑤ 電磁石の出力コネクタ
- ⑥ 携帯電話の制御装置用コネクタ

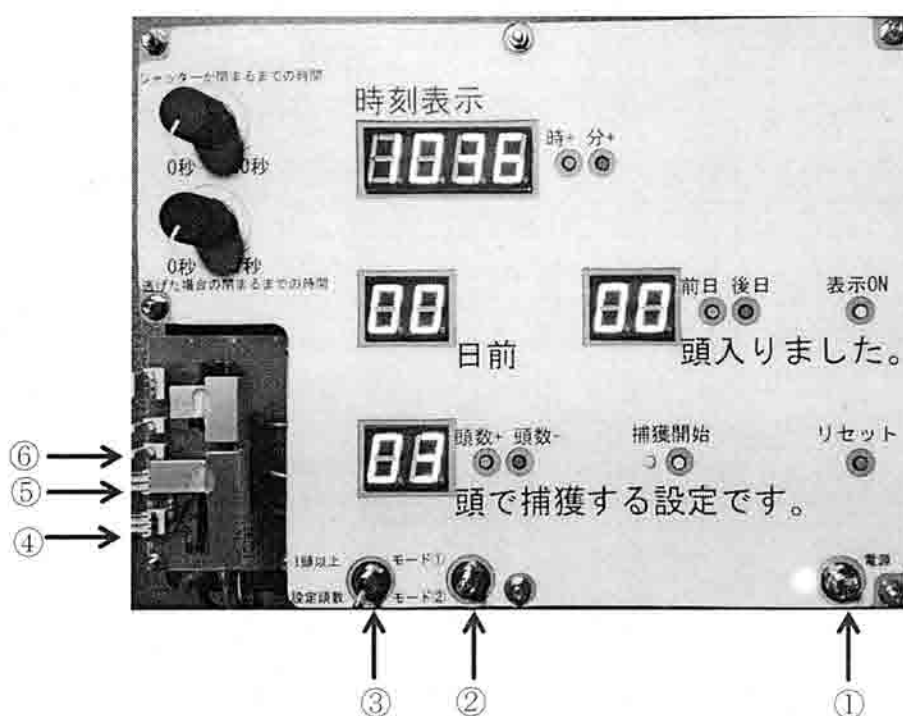


図5. ゲート閉鎖装置 (操作パネル)

3. ゲート閉鎖装置の動作テスト

製作したゲート閉鎖装置について動作テストを行った。(1)～(3)のような結果が得られた。

(1) 電磁石を使用したゲートの扉の制御

檻に進入した野生動物が捕獲目標頭数に達した時、ゲートの扉を保持している電磁石の励磁を解除すると扉が落下する。電磁石の動作を校内で確認した後、野生動物の捕獲用檻が設置されている耕作放棄地に、電磁石を取付けた檻の扉を運搬した。檻のゲートの仮想的な出入口として2本の杭に2ch透過型光電センサーを取付けて、左から右に光電センサーを通過すると「+1」カウント、反対に右から左に光電センサーを通過すると「-1」カウントと設定し、カウント数を頭数カウンタが記録した。今回

は、捕獲目標頭数を3頭に設定し、2ch透過型光電センサーを学生が横切って動作テストを行った。想定したとおり、扉が落下してゲートが閉鎖することを確認した。

(2) リモコンによるゲート閉鎖

檻の設置場所から離れた所からリモコンを用いてゲートを閉鎖するテストを行った。今回は、檻の設置場所から約100[m]離れた所からゲート閉鎖に成功した。見通しがよい方向では200[m]程度までゲート閉鎖が可能だった。

(3) 携帯電話によるゲートの閉鎖

2ch透過型光電センサーで檻に進入した有害野生動物の頭数カウントを行い、事前に設定した捕獲目標頭数に達すると檻の管理者の携帯電話に通知した。今回の動作テストでは、檻の設置場所から約3[km]離れた場所で携帯電話の着信を確認した。次に、携帯電話専用の接続リレー回路を用いて携帯電話の指令によるゲート閉鎖に成功した。ただし、無線通信に適した環境ではないためか、携帯電話の指令とゲートの閉鎖の間にかかなりの時間遅れがあった。

(4) 有害野生動物の捕獲検知と捕獲情報通知装置

捕獲した有害野生動物が檻の内部で激しく動き回ることにより発生する衝撃音を振動センサーで検知して、捕獲従事者の携帯電話に捕獲情報を通知する装置である。耕作放棄地に行く日程調整ができなかったため未実施である。

4. まとめ

有害野生動物の複数頭捕獲檻の普及、促進を目的として、低価格で機械や電気の専門知識がない捕獲従事者が使いやすいゲート閉鎖装置の開発に取り組み、実施した動作テストは成功した。ただし、捕獲情報通知装置については未実施である。

今後の研究展開として、複数の扉が設置された檻のゲート閉鎖装置を開発する予定である。

謝辞

最後に、本研究の遂行にあたり研究経費を助成していただきました(財)八雲環境科学振興財団に感謝します。

参考文献

- (1) <http://www.pref.okayama.jp/page/detail-83737.html>
- (2) http://www.pref.okayama.jp/uploaded/life/83737_2499077_misc.pdf
- (3) <http://www.issei-eco.com/products/kazoemon/detail.html>

鳥類における性ホルモン関連遺伝子のエピジェネティック解析

Epigenetic analysis of sex hormone-related genes in birds

工藤 季之

Toshiyuki Kudo

就実大学 薬学部 薬学科

Department of Pharmaceutical Science, School of Pharmacy, Shujitsu University

はじめに

生物の進化は、その生育環境の変化とは不可分である。脊椎動物の性決定機構の進化も例外でなく、魚類のように環境に大きく左右されるものから、哺乳類のように環境の影響が比較的少ないものへと進化してきた。この性決定機構において、極めて重要な役割をはたしているのが性ホルモンである。動物の性ホルモンは主としてその体内で生合成されるが、同様の働きをもつ物質は環境中にも多く存在しており、一般に環境ホルモンと呼ばれる。動物はその進化の過程において、もともと生育環境に存在していた物質を自らの生理活性物質として利用することを選んだのではないだろうか。これまで、環境物質が生体の機能に及ぼす影響は、主として遺伝子に突然変異をもたらすミュータジェンとして、あるいは脂溶性ホルモン様のメカニズムで遺伝子発現を攪乱する環境ホルモンとしての作用と考えられていた。近年、DNA のメチル化をはじめとするエピジェネティックな情報の重要性が注目され、エピミュータジェンという第 3 の働きが浮かび上がった。さらに、このエピミュータジェンとしての作用が、これまで考えられていたものとは異なる環境ホルモンの新たな作用メカニズムである可能性も考えられている。

鳥類は哺乳類と類似した性決定機構をもちながらも、その機構は哺乳類よりも可塑性に富み、性ホルモンによる性転換が可能である。これまで、鳥類の

性ホルモンを生合成するための酵素（アロマターゼ等）の遺伝子やその遺伝子の発現を制御する転写因子（SF-1、LRH-1 等）を解析することにより、哺乳類との相違を明らかにしてきた。

本研究では、鳥類における性ホルモン関連遺伝子のエピジェネティックな解析を行うことにより、環境物質等が性決定機構に及ぼす影響を検討した。最初に、ニワトリ雄肝がん細胞（Leghorn Male Hepatoma, LMH）に種々の化学物質を作用させ、それらが性ホルモン関連遺伝子の DNA メチル化に与える影響を評価するための実験系の構築を試みた。肝臓は、経口摂取された多くの有害環境物質を解毒する臓器であり、P450 と呼ばれる多くの解毒酵素群をもっている。そのため、環境物質が生体に与える影響を評価するためには最も適した細胞の一つである。また、これら酵素の遺伝子は、核内受容体と呼ばれる転写因子により発現が制御されている。本研究では、エストロゲン（雌化ホルモン）生合成の鍵酵素であるアロマターゼ遺伝子、エストロゲンレセプター遺伝子、エストロゲンを含むステロイド合成の鍵となる転写因子 SF-1 遺伝子、脂質代謝の鍵となる転写因子 LRH-1 遺伝子を解析対象の遺伝子とした。アロマターゼは P450 の一種であり、SF-1 および LRH-1 は核内受容体の一種であることから、性ホルモンの生合成と解毒にはアナロジーが認められる。アロマターゼ遺伝子は通常、成体肝臓では発

現しておらず、がんやウイルス感染などにより突然発現することが知られている。一方、エストロゲンレセプターは、成体肝臓でその発現が確認されている。また、多くの脊椎動物では、アロマトーゼ遺伝子の発現は、SF-1 もしくは LRH-1 により制御されており、通常、肝臓においては LRH-1 の発現のみが認められている。

アロマトーゼ遺伝子については、その転写調節領域のメチル化が遺伝子発現に影響を与える可能性が示唆されている。しかしながら、典型的な CpG アイランド（ゲノムにおける主要なメチル化領域）は認められず、メチル化の変動の幅がかなり狭いため、環境因子の直接的な影響には疑問が残る。一方、転写因子である LRH-1 遺伝子や SF-1 遺伝子の転写調節領域には明瞭な CpG アイランドが認められるため、メチル化による影響をうける可能性が高い。そこで、これらの領域のメチル化状態を詳細に検討することで、アロマトーゼ遺伝子の発現に与える影響を検討した。さらに、LMH 細胞にメチル化阻害剤（アザシチジン、アザデオキシシチジン、ゼブラリン）や環境ホルモン（ゲニステイン、ダイゼイン）を作用させた場合のメチル化状態に与える影響も検討した。

材料と方法

1. 細胞の培養

ニワトリ雄肝がん細胞株 LMH (Leghorn Male Hepatoma) は、ウェイマス MB 752/1 培地 (Waymouth's medium, Life Technologies) に非働化したウシ胎児血清 (FBS, Hyclone) 10% および抗生物質 (最終濃度: 50 units/mL ペニシリン、50 µg/mL ストレプトマイシン、Nacalai Tesque) を添加したものをを用い、37°C、5%CO₂ 下で培養した。また、培養にはブタ腱由来タイプ I コラーゲンでコートされたプラスチックディッシュ (Asahi Techno

表1 PCRに使用したプライマー

primer name	sequence (5'→3')	length
ADS973FP	GTTTTTGGTATAGTTTAAATATGAAGATA	28
ADS973RP	TAACCACACAAAAATACAAC	20
ADS940FP	GTGGGATAATTGTTTGGTGTGA	22
ADS940RP	TCTCCCTCTCCCTCTAACTTTTAA	24
ADS959FP	GGAGAGGGGAGAATGTGTTTT	21
ADS959RP	TCTCCAACCTCAATACCTTAAATC	24
LRH1BS01	GAGGTGTTTTGTTATTTATTTGGTT	25
LRH1BS02	ACTACAAATCATTCCCTACTACCTTAC	27
LRH1BS03	GGAAAGATAGATAAAAATTTTGTTTG	25
LRH1BS04	CTAAAAACCTCTTTTCCACC	21
SF1BS01	GGTTTGTGTAGAGGAAGGTGTTTAA	25
SF1BS02	TTATCAACCAAATACCAAATATCC	25
SF1BS03	GTTTTTATGGGGAGGAGATTG	21
SF1BS04	AAATCACAAAAAACTTCTCTAC	24
M13(-20)	GTAAAACGACGGCCAGT	17
M13(rev)	CAGGAACAGCTATGAC	17

glass) を使用した。

細胞には、アザシチジン (Aza-cytidine, Wako Pure Chemical、最終濃度 20 µmol/L)、アザデオキシシチジン (5-Aza-2'-deoxycytidine, Wako Pure Chemical、最終濃度 20 µmol/L)、ゼブラリン (Zebularin, Wako Pure Chemical、最終濃度 20 µmol/L)、ゲニステイン (Genistein, Wako Pure Chemical、最終濃度 30 µmol/L)、もしくはダイゼイン (Daidzein, Wako Pure Chemical、最終濃度 100 µmol/L) を添加し、2 日間もしくは 7 日間培養した。各試薬はジメチルスルホキシド (DMSO) に溶解した後、培地に添加し、DMSO の最終濃度が 0.02% を超えないようにした。各試薬を含む培地は、1 日ごとに新しいものと交換した。

2. ゲノム DNA の調製とバイスルファイト反応

ゲノム DNA は、培養細胞から NucleoSpin Tissue (MACHEREY-NAGEL) を用いて調製し、各 360 ng の DNA をバイスルファイト反応に供した。バイスルファイト反応は、EpiSight Bisulfite

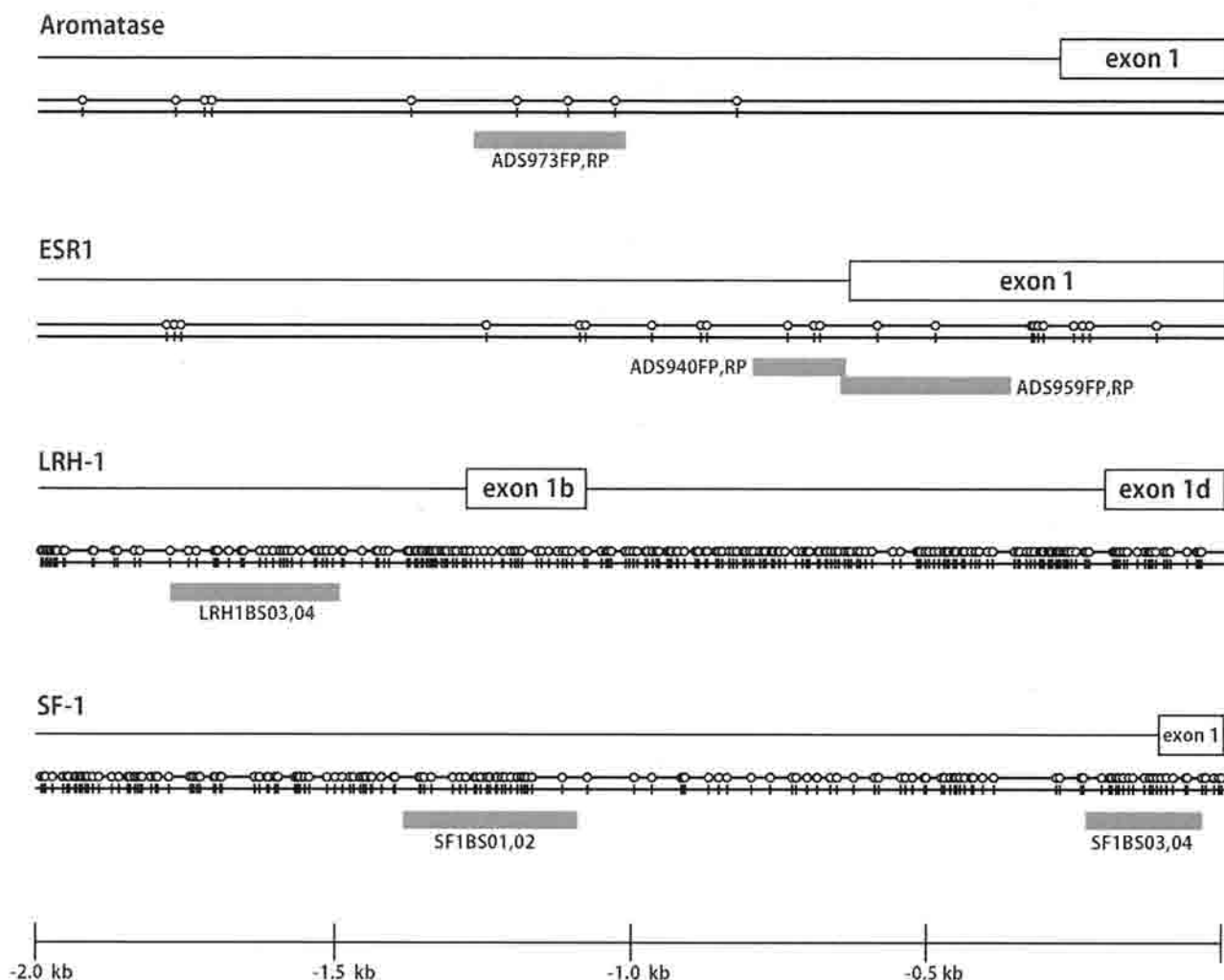


図1 アロマトラーゼ、エストロゲンレセプター (ESR1)、LRH-1、および SF-1 遺伝子の転写調節領域

各遺伝子の第 1 エクソンのスプライシングドナー部位から 5' 上流 2.0 kb までを模式的に示す。ただし、LRH-1 に関しては複数の第 1 エクソンが存在するため、エクソン 1d を基準とした。エクソンは白抜きのボックスで表した。CpG 配列は○で表した。PCR で増幅した領域は灰色のボックスで表した。ただし、LRH1BS0102 に関しては、さらに 5' 上流に位置するため、省略した。

Conversion Kit (Wako Pure Chemical) を用いて行った。

3. PCR とサブクローニング

バイスルファイト処理した DNA を鋳型にし、各プライマーセット(表 1)を用いて、PCR を行った。アロマトラーゼおよびエストロゲンレセプターのプライマーは先行研究²¹⁾に従い、LRH-1 および SF-1 のプライマーは MethPrimer²²⁾により設計した。酵素は、TaKaRa EpiTaq HS (Takara Bio) を使用し、反応条件は、98°C10 秒間 55°C30 秒間 72°C30 秒間で 40 サイクルの増幅で行った。アガロースゲル電気泳動により増幅産物を確認した後、NucleoSpin

Gel and PCR Clean-up (MACHEREY-NAGEL) を用いて DNA 断片を精製した。精製した DNA 断片は、プラスミドベクター pCR4-TOPO (Life Technologies) と反応させた後、ECOS Competent *E. coli* DH5 α (Nippon Gene) に導入した。

3. クローンの同定と塩基配列解析

クローンの同定は、SapphireAmp Fast PCR Master Mix (Takara Bio) を用いたコロニーPCRにより行った。プライマーは M13(-20)および M13(rev)を使用した(表 1)。アガロースゲル電気泳動により挿入配列が確認できたクローンについて、塩基配列の解析に進めた。シーケンシング反応は、

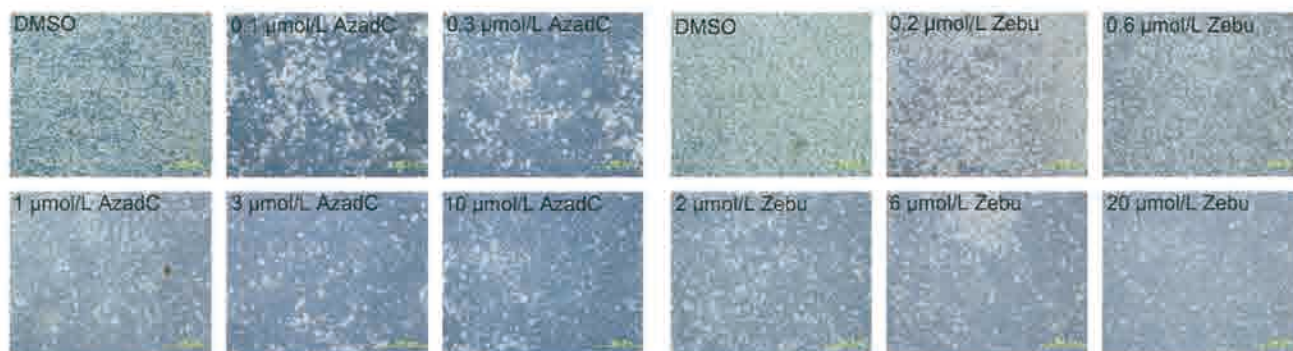


図2 アザデオキシシチジン (AzadC) およびゼブラリン (Zebu) がLMH細胞の増殖に与える影響
アザデオキシシチジンおよびゼブラリンを種々の濃度で添加し、LMH細胞を7日間培養した時の細胞の様子。高濃度では細胞毒性を示し、著しく増殖が阻害されている。溶媒として使用したDMSOのみでは、明らかな毒性は認められない。

BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Life Technologies) を用いて行い、3100-Avant Genetic Analyzer (Life Technologies) により解析を行った。鋳型DNAは、NucleoSpin Gel and PCR Clean-up (MACHEREY-NAGEL) を用いて精製したPCR産物、もしくはNucleoSpin Plasmid QuickPure (MACHEREY-NAGEL) を用いて精製したプラスミドDNAを使用した。

4. メチル化配列解析ツールによる解析

1 サンプルにつき少なくとも24クローンの塩基配列データを、QUantification tool for Methylation Analysis (QUMA)³⁾によるメチル化配列の解析に使用した。デフォルト設定で品質が低いと判定された配列を除外した後、有効な配列データが少なくとも20クローンとなるまで塩基配列の解析を行った。

結果

1. 雄成体肝臓および未処理LMH細胞でのメチル化状態

アロマターゼ遺伝子のADS973FP,RPで増幅される領域にはCpG配列は3ヶ所存在する(図1)が、雄成体肝臓におけるメチル化は、5'上流域より順に73.9%、78.3%、69.6%、未処理LMH細胞におけるメチル化は、75.0%、80.0%、80.0%であった。

ESR1遺伝子のADS940FP,RPおよびADS959FP,RPで増幅される領域には、CpG配列はそれぞ

れ3ヶ所および2ヶ所存在する(図1)が、未処理LMH細胞におけるメチル化は、3.8%、7.7%、0.0%、0.0%、0.0%であった。

LRH-1遺伝子のLRH1BS0102およびLRH1BS0304で増幅される領域には、CpG配列はそれぞれ20ヶ所および17ヶ所存在する(図1)が、未処理LMH細胞におけるメチル化は、前者が全体で2.0%、後者が全体で86.4%であった。

SF-1遺伝子のSF1BS0102およびSF1BS0304で増幅される領域には、CpG配列はそれぞれ27ヶ所および16ヶ所存在する(図1)が、未処理LMH細胞におけるメチル化は、前者が全体で92.5%、後者が全体で74.5%であった。

2. メチル化阻害剤が細胞増殖に与える影響

種々のメチル化阻害剤が細胞増殖に与える影響を検討するため、アザシチジン(AzaC)、アザデオキシシチジン(AzadC)、またはゼブラリン(Zebu)を20 μmol/Lで培地に添加し、LMH細胞を2日間培養した。AzaCはLMH細胞に対する毒性が高く、多くの細胞が死滅した。AzadCおよびZebuは、AzaCに比べて低いもののやはり毒性が認められた。そこで、AzadCおよびZebuに関して、添加する濃度をそれぞれ10, 3, 1, 0.3, 0.1 μmol/Lと20, 6, 2, 0.6, 0.2 μmol/Lに変えて、LMH細胞を7日間培養した。いずれも、今回使用した濃度域では、最も低濃度のものでも明らかな細胞毒性が認められ、増殖

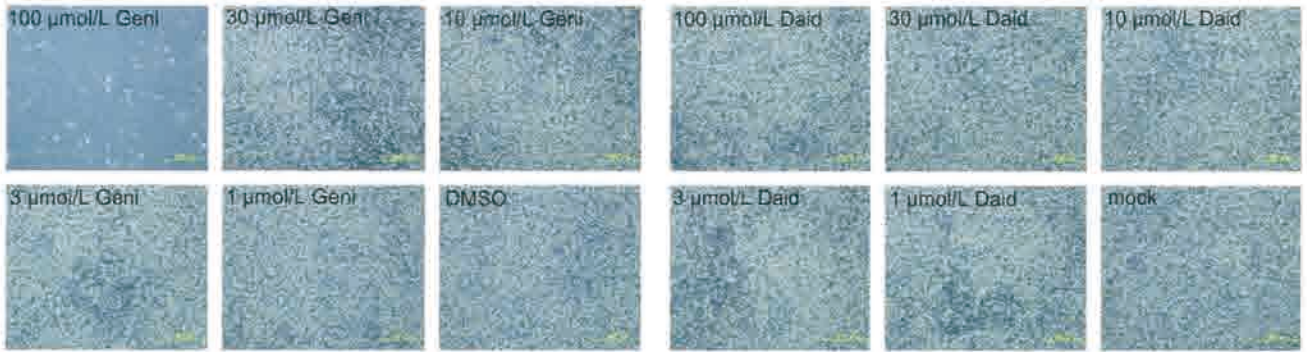


図3 ゲニステイン (Geni) およびダイゼイン (Daid) がLMH細胞の増殖に与える影響
ゲニステインおよびダイゼインを種々の濃度で添加し、LMH細胞を7日間培養した時の細胞の様子。100 μmol/L ゲニステインでは明瞭な細胞毒性を示し、著しく増殖が阻害されている。それ以外では、未処理 (mock) と比較して、明らかな毒性は認められない。

が著しく阻害された (図 2)。

3. 環境ホルモンが細胞増殖に与える影響

ダイズ由来のホルモン様物質であるゲニステイン (Geni) およびダイゼイン (Daid) が、細胞増殖に与える影響を検討した。Geni および Daid に関して、添加する濃度を 100, 30, 10, 3, 1 μmol/L に変えて、LMH 細胞を 7 日間培養した。ゲニステインを 100 μmol/L で添加した場合、著しい細胞毒性を示し、増殖が阻害された。それ以外の濃度、および今回使用した濃度域でのダイゼインでは、いずれも明瞭な細胞毒性は認められなかった (図 3)。

4. メチル化阻害剤および環境ホルモンがメチル化

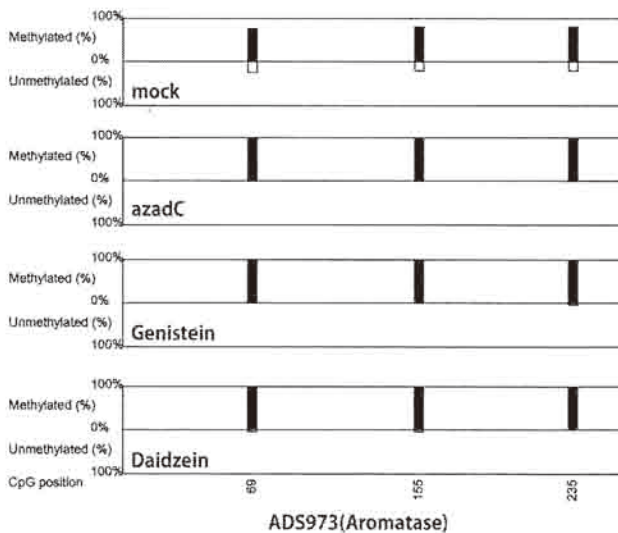


図 4 メチル化阻害剤および環境ホルモンによるアロマターゼ遺伝子のメチル化状態の変化
メチル化部位は黒のバーで、非メチル化部位は白のバーで示す。ポジションは、PCR による増幅配列の 5' 末端からの位置で示す。

状態に及ぼす影響

アロマターゼ遺伝子の ADS973FP,RP で増幅される領域に存在する 3 ヶ所 CpG 配列は、未処理の状態においても高頻度でメチル化されているが、AzadC、Geni、Daid いずれの処理においてもメチル化がさらに亢進される結果となった (図 4)。

LRH-1 遺伝子の LRH1BS0304 で増幅される領域に存在する 17 ヶ所の CpG 配列では、いずれの処理においても全体としてはメチル化状態に大きな変動はなかった (図 5)。ただし、Geni、Daid で処理した場合、ポジション 155、191 で p 値が 0.01 以下となった。

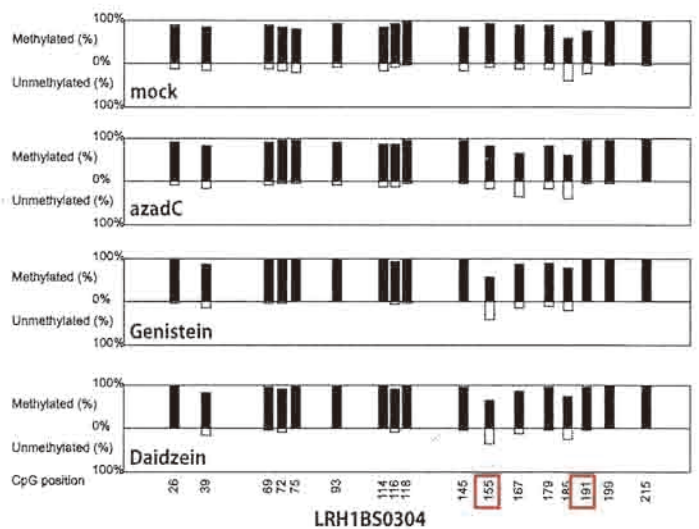


図 5 メチル化阻害剤および環境ホルモンによる LRH-1 遺伝子のメチル化状態の変化
メチル化部位は黒のバーで、非メチル化部位は白のバーで示す。ポジションは、PCR による増幅配列の 5' 末端からの位置で示す。

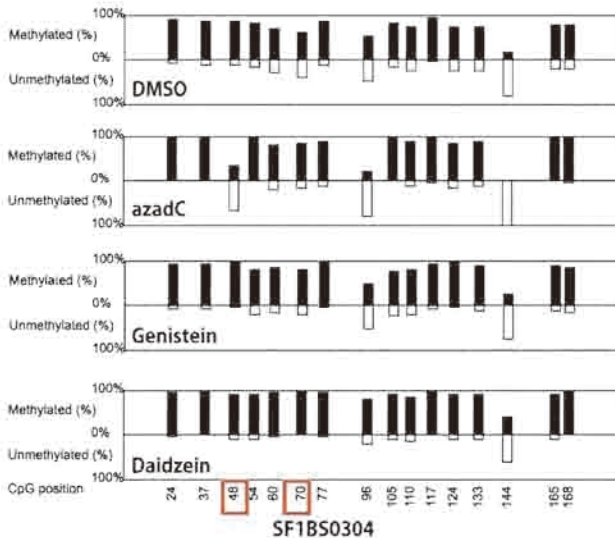


図 6 メチル化阻害剤および環境ホルモンによる SF-1 遺伝子のメチル化状態の変化

メチル化部位は黒のバーで、非メチル化部位は白のバーで示す。ポジションは、PCR による増幅配列の 5' 末端からの位置で示す。

SF-1 遺伝子の SF1BS0304 で増幅される領域に存在する 16 ヶ所の CpG 配列では、いずれの処理においても全体としてはメチル化状態に大きな変動はなかった (図 6)。ただし、AzadC 処理では、ポジション 48、96、144 で脱メチル化の傾向が認められ、ポジション 48 では、p 値が 0.01 以下となった。また、Daid 処理では、ポジション 70 で p 値が 0.01 以下となった。

考察

今回の解析では、メチル化阻害剤を使用した場合も、環境ホルモンを使用した場合も、DNA のメチル化状態に大きな変動は認められなかった。メチル化阻害剤に関しては、いずれも抗がん作用が認められている物質であるため、今回使用した LMH 細胞に対しては、その作用が大きく現れたものと考えられる。そのため、生き残った細胞は、メチル化阻害剤に対する耐性を獲得した可能性 (例えば DNA メチルトランスフェラーゼの亢進など) がある。また、環境ホルモンに関しては、DNA のメチル化作用がヒストン修飾などを介した間接的なものであると予

想されるため、効果が現れるまでのラグタイムが存在する可能性がある。

アロマターゼ遺伝子で今回解析した領域は、生殖腺においてエストロゲンの作用により脱メチル化が起こることが報告されている¹⁾。しかしながら、今回の結果では、いずれの処理でもメチル化が亢進しており、LMH 細胞に対するエストロゲンの作用についても検討が必要である。LHR-1 遺伝子には複数の第 1 エクソンが存在するため⁴⁾、今回解析した領域以外に、よりメチル化の変動が起こりやすい領域が存在する可能性があり、更なる解析が必要である。SF-1 遺伝子は、子宮内膜間質細胞においてゲニステインの作用により脱メチル化が起こることが報告されているが⁵⁾、その作用は一部の高感受性細胞のみに限られており、更なる検討が必要である。

謝辞

本研究の一部は、公益財団法人八雲環境科学振興財団の平成 26 年度環境研究助成 (一般研究) を得て行いました。記して謝意を表します。また、本研究を行うにあたり、久保木千晴氏にご協力頂きました。

参考文献

- 1) Ellis HL, Shioda K, Rosenthal NF, Coser KR, Shioda T. (2012) Biol Reprod. 87(1):23, 1-12.
- 2) James P, Girijadevi R, Charles S, Pillai MR. (2013) Bioinformatics. 9(1):61-64.
- 3) Kumaki Y, Oda M, Okano M. (2008) Nucleic Acids Res. 36(Web Server issue):W170-175.
- 4) Kudo T, Sutou S. (2006) Gene. 367:38-45.
- 5) Matsukura H, Aisaki K, Igarashi K, Matsushima Y, Kanno J, Muramatsu M, Sudo K, Sato N. (2011) Biochem Biophys Res Commun. 412(2):366-372.

セイタカアワダチソウの広域的出現が 天敵昆虫の生態と生物機能に及ぼす影響の解析

岡山大学資源植物科学研究所 園田昌司

1. はじめに

帰化植物であるセイタカアワダチソウ *Solidago altissima* は、高い競争力と繁殖力を備え、耕作放棄地や休耕田においてしばしば優占種となる(榎本, 2012)。セイタカアワダチソウヒゲナガアブラムシ *Uroleucon nigrotuberculatum* (以下ヒゲナガと表記)は、1980年代後半に日本に移入してきた北アメリカ原産の外来種であり、東北地方南部から九州南部まで分布している(榎本, 2012)。ヒゲナガは日本ではセイタカアワダチソウのみに寄生する。

ナミテントウ *Harmonia axyridis* は、特に日本を含むアジア諸国において、アブラムシの有力な生物防除因子として認識されている(Koch, 2003)。最近、ヒゲナガは天敵昆虫ナミテントウの発育、生存にとって不適であることが報告された(Kamo et al., 2010; Kamo and Tokuoka, 2011)。

岡山県倉敷市ではナミテントウを含めて少なくとも4種のテントウムシ(ナミテントウ、ナナホシテントウ *Coccinella septempunctata*、ダンダラテントウ *Cheilomenes sexmaculatus*、ヒメカメノコテントウ *Propylea japonica*)がセイタカアワダチソウ上においてヒゲナガを摂食する。セイタカアワダチソウ群落は、農業従事者の高齢化や減反政策等により、今後も増加すると考えられる。そのため、セイタカアワダチソウ群落の広域的出現とそれに伴うヒゲナガの多発生が、天敵昆虫であるテントウムシの生態と生物機能に及ぼす影響を調べることは農業環境の保全においても重要である。

本研究では、ヒゲナガの摂食が4種のテントウムシの発育と増殖に及ぼす影響を調べた。その上で、セイタカアワダチソウ群落の広域的出現とセイタカアワダチソウヒゲナガアブラムシの多発生が、ナミテントウをはじめとするテントウムシの生態と生物機能に及ぼす影響について議論した。

2. 実験方法

2.1. 供試昆虫

ナミテントウとモモアカアブラムシ *Myzus persicae* (以下モモアカと表記)は2012年5月、世古智一博士(農研機構)より分譲していただいた。2013年5月、岡山大学資源植物科学研究所の実験圃場周辺でダンダラテントウ、ヒメカメノコテントウ、ナナホシテントウ成虫を採集した。

テントウムシ成虫(10-15頭)は透明なプラスチック製の大容量(直径15cm、高さ6.5cm)で飼育した。テントウムシ成虫にはソラマメの苗で飼育したモモアカもしくはスジコナマダラメイガ *Ephestia kuehniella* の冷凍卵(以下スジコナと表記)を与えた。容器には産卵場所と

してティッシュペーパー片を挿入した。得られた卵塊は透明なプラスチック製の小容器(直径9cm、高さ4cm)に移し、孵化した幼虫を実験に用いた。テントウムシは25°C、16L8Dの長日条件で飼育した。

2.2. 餌条件がテントウムシの幼虫発育に及ぼす影響

卵塊から孵化したナミテントウの1齢幼虫を5つのグループに分け、以下の様式でアブラムシを与えた。グループ1：孵化直後よりヒゲナガのみを与える、グループ2：モモアカを3日間与え(2齢時まで)、その後ヒゲナガのみを与える、グループ3：モモアカを5日間与え(3齢まで)、その後ヒゲナガのみを与える、グループ4：モモアカを7日間与え(4齢まで)、その後ヒゲナガのみを与える、グループ5：幼虫期間中モモアカのみを与える。幼虫は個体ごとに小容器内で飼育し、生存虫を毎日数えた。

卵塊から孵化したナミテントウの1齢幼虫に5日間もしくは7日間モモアカを与え、その後ヒゲナガを2日間与えた。2日間ヒゲナガを与えた後、再びモモアカを与えた。幼虫は個体ごとに小容器内で飼育し、生存虫を毎日数えた。

卵塊から孵化したダングラテントウ、ヒメカメノコテントウ、ナナホシテントウに関しては、幼虫期間を通じて毎日モモアカもしくはヒゲナガを与えた。幼虫は個体ごとに小容器内で飼育し、生存虫を毎日数えた。

2.3. 餌条件がナミテントウの増殖に及ぼす影響

ナミテントウの羽化成虫の雄雌をペアにして、餌としてモモアカもしくはスジコナを毎日与え、産卵させた。産下卵からの幼虫孵化が確認できたペアについては、1)ヒゲナガを餌として与える、もしくは2)絶食させた。雌成虫の生存と産下された卵塊を毎日調べた。

3. 結果

3.1. 餌条件がテントウムシの幼虫発育に及ぼす影響

孵化直後からヒゲナガを摂食したナミテントウの1齢幼虫(8個体)はいずれも2日以内に死亡した(図1)。孵化後3日間(8個体)、5日間(8個体)モモアカを摂食した1齢幼虫もそれぞれ、ヒゲナガへの餌の切り替え後3日以内、5日以内に死亡した(図1)。孵化後7日間モモアカを摂食した6個体中2個体のみがヒゲナガへの餌の切り替え後8日目まで生存した(図1)。孵化直後からモモアカを摂食した場合、調査期間中に死亡した個体は見られなかった(図1)。

孵化直後からモモアカを5日間あるいは7日間摂食した幼虫は、餌切り替えで2日間ヒゲナガを摂食した間も生存し、再度のモモアカへの餌切り替えにより全ての個体が羽化した。

孵化直後からヒゲナガを摂食したダングラテントウ、ヒメカメノコテントウ幼虫の羽化率はいずれも5%未満であった。一方、ナナホシテントウでは77%の幼虫がヒゲナガのみ

の摂食で羽化することができた。ヒゲナガを摂食したナナホシテントウの発育期間は、モモアカを摂食した場合よりも長かった。孵化直後からモモアカを摂食したダンダラテントウ、ヒメカメノコテントウ、ナナホシテントウの羽化率はそれぞれ、92%、100%、100%であった。

3.2. 餌条件がナミテントウムシの増殖に及ぼす影響

合計 23 のナミテントウの雌雄ペアに十分量のモモアカもしくはスジコナを与えた。産下卵からの幼虫孵化が確認された 12 ペアの餌をヒゲナガに変更した。全てのペアは餌切り替え後 1-2 卵塊を産下した(図 2)。産下された卵塊の 73%から 1 齢幼虫が孵化した。産下卵からの幼虫孵化が確認された残りの 11 ペアは絶食させた。その結果、3 ペアのみが 1 卵塊を産下した(図 2)。産下された 3 卵塊中、1 卵塊より孵化幼虫の出現が確認された。

モモアカからヒゲナガへの餌切り替え後とモモアカから絶食への切り替え後の雌成虫の生存期間はほぼ同じであった。

4. 考察

ナミテントウの発育にとってヒゲナガが不適な餌であることはすでに報告されている(Kamo et al. 2010; Kamo and Tokuoka 2011)。ナミテントウの老齢幼虫はヒゲナガ摂食後も若齢幼虫より長く生存したが、発育を完了することはできなかった(Kamo and Tokuoka 2011)。本研究においても同様の結果が得られた。以上の結果より、ナミテントウはヒゲナガのみでは発育を完了することが出来ないと結論付けた。同様に、ダンダラテントウ、ヒメカメノコテントウにとってもヒゲナガは不適な餌であることが示された。一方、ナナホシテントウでは高い割合の個体がヒゲナガのみの摂食で発育を完了することができた。ただし、モモアカのみを摂食した場合に比べて発育期間は長くなったことから、ナナホシテントウにとってもヒゲナガはモモアカほど好適な餌とは言えないようである。次世代シーケンシングによるテントウムシ幼虫の腸内細菌相は 4 種間で異なることが示された。テントウムシ幼虫によるヒゲナガの利用可能性と腸内細菌相の関係の解明は今後の課題として残った。

モモアカもしくはスジコナを摂食し、産卵が確認された雌成虫を絶食させたところ、少数の雌成虫が 1 卵塊を産下のみであった。しかし、ヒゲナガを摂食した場合は、全ての雌成虫が 1-2 卵塊を産下した。ただし、ナミテントウの雌成虫は実験室内では潜在的には 3819 卵(一日平均 25.1 卵)を産下する能力がある(Hukusima and Kamei 1970)ことを考慮すれば、ヒゲナガはナミテントウの増殖にとっても不適な餌であると言える。

モモアカで発育したナミテントウの老齢幼虫に 2 日間ヒゲナガを与えたところ、全ての個体が生存した。また、全ての生存個体はその後のモモアカへの餌切り替えにより羽化した。これらの結果は、ヒゲナガによる幼虫発育への悪影響はその後の好適な餌の摂食により回復することを示唆している。

テントウムシの餌は4つのタイプに分けることができる：必須餌、代替餌、有害餌、拒否餌(Hodek and Honěk 1996)。一般に、ナミテントウ、ダンダラテントウ、ヒメカメノコテントウ、ナナホシテントウの幼虫と成虫はヒゲナガを拒否しない。ヒゲナガを摂食したナミテントウの雌成虫は絶食した雌成虫よりも多くの卵塊を産下した。このことより、ヒゲナガは野外では有害餌でもなく、恐らく代替餌として利用されていると考えられる。ナナホシテントウや同属のテントウムシ *C. transversoguttata* の産卵は必須餌と代替餌の摂食により増加する(Evans et al. 1999)。セイトカアワダチソウ上では、6つの目、11の科に属する、20種の植食性昆虫が見られる(Ando et al. 2010)。ナミテントウはアブラムシ以外にも、ダニ、キジラミ、カイガラムシ、ハムシの幼虫、ゾウムシの幼虫、チョウやガの幼虫を摂食することが知られている(Koch 2003)。セイトカアワダチソウで必須餌が利用可能であれば、ヒゲナガの摂食は産卵数の増加、一時的な飢えの回避などを通じてテントウムシに正の影響を及ぼしている可能性がある。セイトカアワダチソウの広域的出現がテントウムシの生態および生物機能に及ぼす影響の評価には、セイトカアワダチソウ上で見つかった昆虫種がテントウムシの発育や増殖に与える影響、必須餌の利用可能性等を考慮した上で結論付ける必要がある。

謝辞

本研究を行うにあたりご支援を賜りました財団法人八雲環境科学振興財団に心より感謝いたします。

参考文献

- Ando T, Utsumi S, Ohgushi T (2010) Community structure of insect herbivores on introduced and native *Solidago* plants in Japan. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 136: 174-183.
- 榎本敬(2012) セイトカアワダチソウは悪者か？ 帰化植物の自然史：侵略と攪乱の生態学 (森田竜義 編), 北海道大学出版会, 札幌, pp. 161-175.
- Evans EW, Stevenson AT, Richards DR (1999) Essential versus alternative foods of insect predators: benefits of a mixed diet. *Oecologia* 121: 107-112.
- Hodek I, Honěk A (1996) *Ecology of Coccinellidae*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Hukushima S, Kamei M (1970) Effects of various species of aphids as food on development, fecundity and longevity of *Harmonia axyridis* Pallas (Coleoptera: Coccinellidae). *Research Bulletin of the Faculty of Agriculture, Gifu University* 29: 53-66.

Kamo T, Tokuoka Y (2011) Influence of the prey aphid *Uroleucon nigrotuberculatum* parasitizing *Solidago canadensis* on the larval and adult survivorship of the predatory ladybird beetle *Harmonia axyridis*. Ecol Res 26: 471-476.

Kamo T, Tokuoka Y, Miyazaki M (2010) Influence of aphid-host plant pairs on the survivorship and development of the multicolored Asian ladybird beetle: implications for the management of vegetation in rural landscapes. Ecol Res 25: 1141-1149.

Koch RL (2003) The multicolored Asian lady beetle, *Harmonia axyridis*: A review of its biology, uses in biological control, and non-target impacts. J Insect Sci 3: 32.

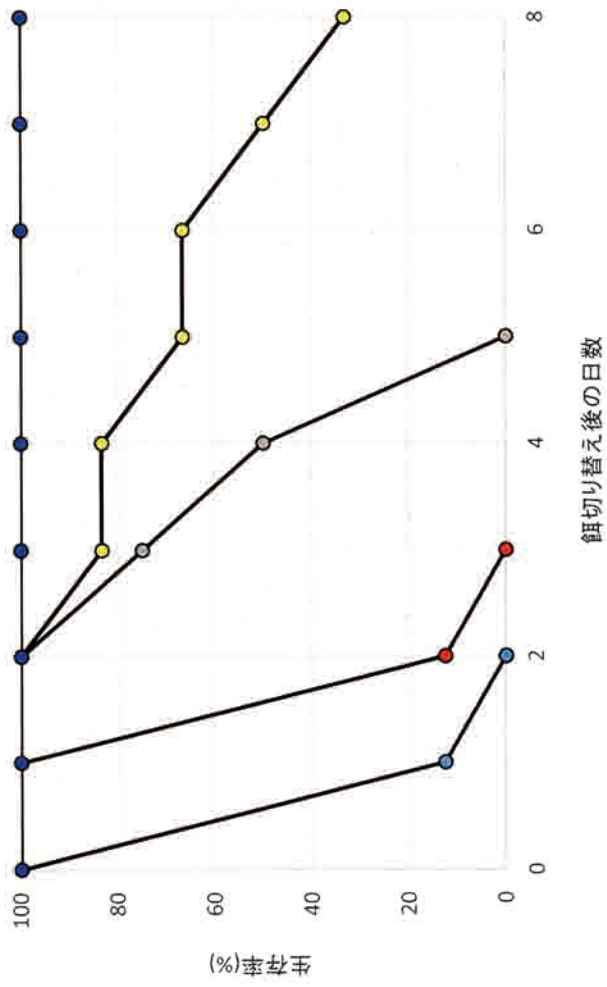


図1.異なる发育ステージよりセイタカアワダチソウヒゲナガアブラムシを摂食したナミテントウ幼虫 (孵化直後より: 水色; 3日後より: 橙色; 5日後より: 灰色; 7日後より: 黄色)の生存曲線. コントロール (青色)は孵化直後よりモモアブラムシ摂食.

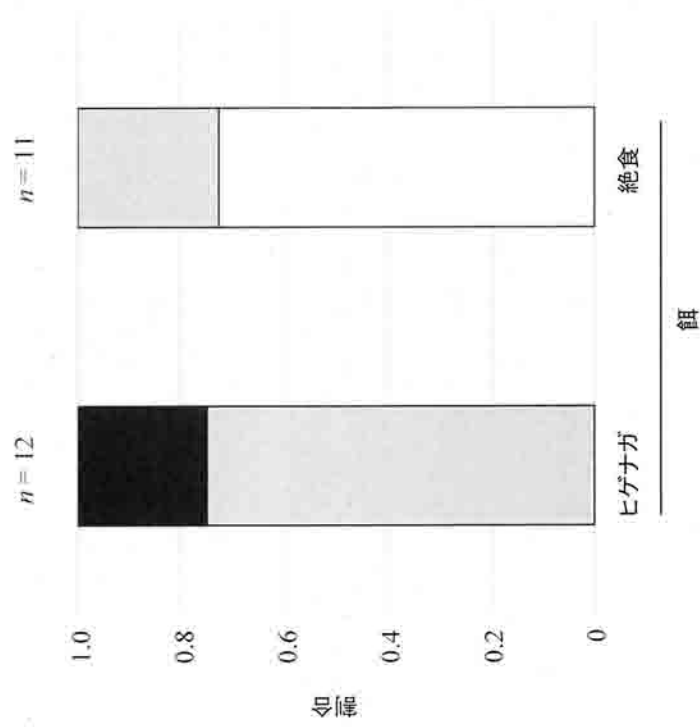


図2.セアカアワダチソウヒゲナガアブラムシを摂食させた場合と絶食させた場合のナミテントウ雌成虫の卵塊生産数. 白色: 卵塊数0; 灰色: 卵塊数1; 黒色: 卵塊数2

平成 26 年度 国際研究交流助成報告

9. 平成 26 年度 国際研究交流助成報告

助成対象者	所 属	参加会議	ページ
山口 恵子	岡山大学大学院 社会文化科学研究科	World Congress of Environmental and Resource Economists 2014 in Istanbul	101
島崎 康弘	岡山県立大学 情報工学部	第 10 回スポーツ工学国際会議	102
大橋 唯太	岡山理科大学 生物地球学部	第 14 回欧州気象学会年次会議及び 第 10 回応用気候学に関する欧州会議	103
大久保貴広	岡山大学大学院 自然科学研究科	3 rd International Conference on Energy and Environment-Related Nanotechnology (ICEEN2014)	104

山口 恵子

岡山大学大学院社会文化科学研究科

参加会議名	World Congress of Environmental and Resource Economists 2014 in Istanbul
主催団体名	World Congress of Environmental and Resource Economists 2014, European Association of Environmental and Resource Economists(EAERE), Association of Environmental and Resource Economists(AERE)
開催期間	平成 26 年 6 月 28 日～平成 26 年 7 月 2 日
開催地	イスタンブール (トルコ)

表 題 EFFECT OF AN ENERGY REBATE PROGRAM ON CONSUMER TV SELECTION

消費者は将来に省エネから得られる便益を軽視し、省エネ製品に過少投資する傾向にあることが先行研究で示されている。そのような消費者の近視的行動を変えるべく、政府は様々な財に対する割引制度を実施している（例：電化製品、住宅、自動車、太陽光パネルなど）。

本研究の目的は、省エネ製品の普及を目的としたエコポイント制度が消費者の TV 購入選択に与える影響を分析することである。具体的には以下の 3 点に焦点を当てている。

- (1) より大きな TV が選択されるのか？
- (2) より高性能な TV が選択されるのか？
- (3) どの程度の電力が消費されるのか？

分析結果より、以下の 2 点が明らかとなった。1 点目は、エコポイント制度によって消費者は特定のスクリーンサイズの中では省エネ性能が高く、より大きなテレビを選択するようになった。2 点目は、エコポイント制度によってより大きなテレビが購入されるようになってしまった結果、電力消費量がかなり増加した。したがって、リベート制度は消費者にエネルギー効率的な製品選択を促すが、リベート量はエネルギー効率性の基準に基づいて行う必要があることが示唆された。

島 崎 康 弘

岡山県立大学 情報工学部

参加会議名	第 10 回スポーツ工学国際会議
主催団体名	国際スポーツ工学会
開催期間	平成 26 年 7 月 14 日～平成 26 年 7 月 17 日
開催地	イギリス・シェフィールド

表 題 屋外暑熱環境活動における環境構成材と衣服材料の物性が人体温熱状態に与える影響

本発表では「Effect of properties of sports surface and clothing materials on human thermal load under hot environment」と題して、熱物性のセッションにて発表を行った。

人間活動のパフォーマンスは温熱的要素の影響を強く受ける。例えば、夏場に行われるスポーツ競技ではパフォーマンスの発揮が十分にできなかつたり、時として熱中症などの障害を発症したりする。従って、人間が安全に、かつ能力を十分に発揮するには、人体の温熱状態を把握することが重要となる。人体の温熱状態は、人体熱収支と密接にかかわることが分かっており、筆者らは「人体熱負荷量」という指標を考案して、これを用いた評価を行っている。これまでの研究では、室内空間の快適性評価など比較的変動が小さく、また、熱負荷の大きくない空間での適用がされてきた。本発表では、更に活動量が大きく、屋外の日射の影響を強く受けるような高熱負荷環境での実験を行い、更に人体温熱状態を適切に保つための解決策を模索した。

まず、そのような高熱負荷を表現するための計算式を新たに作成した。その中で、温熱環境は気象要素のみで決定されるわけではなく生活を構成する様々な物質や人体生理に関わるため、人間の生活空間や身につける衣服素材等の物性計測をもとに、活動中における人体温生理情報を解析した。物性計測においては他の物質を想定した規格を生活素材に活用できるようにし、更に被験者実験を用いた官能評価によってその性能を確かめた。屋外空間では物質のふく射特性の影響が大きいことが明らかになったため、さらには、メーカーの協力のもとに日射を反射しふく射受熱量を抑えることができる新素材を開発し、その効果を活動時に検証した。熱的物性はふく射特性以外大きく変わらなかったが、新機能を付与する過程で厚みに違いがみられたため、ふく射を遮断するだけでは温熱状態の改善をすることはできなく、今度更に実験を重ねて、素材改質等を通して安全やパフォーマンス向上に寄与できるようにしていく。

大橋唯太

岡山理科大学 生物地球学部

参加会議名	第 14 回欧州気象学会年次会議及び第 10 回応用気候学に関する欧州会議
主催団体名	欧州気象学会
開催期間	平成 26 年 10 月 6 日～平成 26 年 10 月 10 日
開催地	チェコ・プラハ

表 題 Numerical simulations of outdoor heat stress maps in the 23 wards of Tokyo, Japan.

夏季の気温上昇によって、日本では熱中症で救急搬送される患者が年々増加している。本研究では、数値モデルを利用して都市スケールで発生する熱中症ハザードと発生リスクを算定する手法を考案した。具体的な事例として、日本の東京 23 区を対象とした 2010 年夏季における屋外の熱ストレス・マップを 1km メッシュの空間解像度で再現した。熱ストレスの数値的指標に WBGT (Wet-bulb Globe Temperature) インデックスを採用し、日最高 WBGT の分布を解析した。その結果、特に東京 23 区の西部にあたる内陸部で WBGT が大きく、熱中症ハザードの高い地域が認められた。特に日向条件下の計算で顕著であった。23 区内における WBGT の場所 (メッシュ) による違いは、月平均値で 7 月・8 月ともに日向条件下で 2.5°C、日影条件下で 2.0°C も現れていた。この差は熱中症ハザードのランクや救急搬送数の増加から考えても、無視できない大きさであった。

この WBGT のメッシュ・マップをもとに、予測患者数によって表現した熱中症リスク・マップを作成した。これは、一般市民が直感的にわかりやすい情報として数値化した表現方法である。この際にメッシュごとの昼間人口が考慮されるため、計算された熱中症リスクは気象条件と人口の違いの 2 つの要素を含むことになり、より現実的な数値指標として示された。

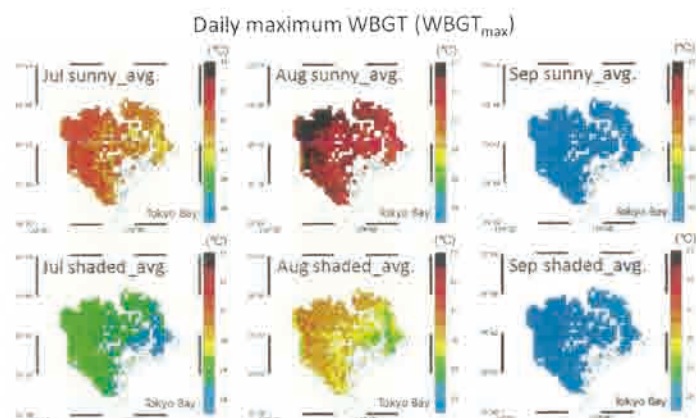


図 数値シミュレーションによって再現された東京 23 区における 2010 年 7～9 月の日最高 WBGT のマップ。上段は日向環境、下段は日影環境での結果を表す。

大久保 貴広

岡山大学大学院自然科学研究科

参加会議名	第3回エネルギーおよび環境関連ナノテクノロジーに関する国際会議
主催団体名	中国科学院
開催期間	平成26年10月24日～平成26年10月27日
開催地	北京(中国)

表 題 ナノ制約錯体化合物－特異的な構造と環境調和型金属酸化物ナノ粒子の合成－

本会議はエネルギーおよび環境問題の解決に直結したナノテクノロジーを広く議論し、問題の解決に繋げることを目的としており、今回が3回目の開催となった。2年毎に開催されており2012年に行われた第2回の会議に比べて規模も拡大して行われた。環境問題は開催国ではある中国で大きな問題となっていることは周知のとおりであり、国内外から多くの関連研究者が結集して議論が交わされた。今年の会議は世界10か国から約100名の参加者が集い、基調講演4件、キーノート講演2件、招待講演27件、口頭発表20件、ポスター発表42件の各発表を中心に熱心に議論が交わされた。特に、基調講演とキーノート講演では日本の著名な研究者が1名ずつ講演するなど、環境問題でも先進国である我が国の先駆性をうかがい知ることができた。また、招待講演でも私を含めて4件の日本人による発表が行われた。開催国である中国の研究者による招待講演が圧倒的に多かったが、中国における研究面での量だけでなく質の面でも飛躍的な発展を遂げている印象をもった。

今回は招待講演として招かれ、「Nano-restricted coordination compounds – specific structure and eco-friendly synthesis of metal oxide nanoparticles –」というタイトルで、最新の研究成果も交えて30分の講演を行った。本講演では主に以下に示す2点に焦点を絞り講演した。

① 1次元および2次元ナノ空間中に制約された酢酸亜鉛の特徴的な構造

単層カーボンナノチューブ(SWNT)および活性炭(AC)の細孔内における酢酸亜鉛錯体の水和状態について報告した。X線吸収スペクトルの時間変化を検討した結果、不均一な吸着構造が形成されており、ミクロ孔内に分散させた酢酸亜鉛の20～40%程度しか溶解しておらず、水の飽和蒸気圧下(湿度100%)の状態ですら半分以上の酢酸亜鉛は真空状態下とほぼ同じ状態で吸着していることを発表した。

② SWNTのミクロ孔に制約された酢酸銅の特徴的な光還元反応

SWNTの細孔内に酢酸銅と水を同時に吸着させ、飽和蒸気圧下で可視光を照射すると光還元反応が進行し、亜酸化銅ナノ粒子が生成することを報告した。この結果は、常温・常圧下で可視光を照射するだけで容易に水の酸化反応(≒光合成)が進行する可能性を示しており、エネルギー変換材料としてオールカーボンの安価な材料を使える可能性を示唆していると考えられる。

発表後の質疑応答では、今後の展開を中心に議論をさせてもらい、有意義な意見をもらうことができた。

平成 26 年度 研究集会助成報告

10. 平成 26 度 研究集会助成報告

助成対象者	所 属	集会名	ページ
富田 栄二	岡山大学大学院 自然科学研究科	第 52 回燃焼シンポジウム	106

富田 栄二

岡山大学大学院自然科学研究科

研究集会名称	第52回燃焼シンポジウム
主催機関名	一般社団法人 日本燃焼学会
開催期間	平成26年12月3日～平成26年12月5日 (3日間)
開催地	岡山コンベンションセンター

<内容>

開会式
特別講演
講演セッション
ポスターセッション
美しい炎の写真展
ワークショップ
機器・カタログ展示
招待講演
国際賞授賞式・受賞講演
日本燃焼学会事業報告・表彰授与式
懇親会

平成 26 年度 その他の助成報告

11. 平成 26 年度 その他の助成報告

助成対象名称	内容	ページ
岡山市少年少女発明クラブ	異年齢集団で、「個」の発想を話し合う場面の助言で、「個」が狙っている物つくりの特徴が集団の皆に分かりやすくなるような援助をする。	108

できた 遊んだ 気づいた

感性豊かに——・自己表現と支援・——

1 「はじめに」

子どもの自己表現には、言葉や態度、作品そのものが使われる。自己表現は思考や創造によって支えられている。岡山市少年少女発明クラブでは、子どものこうした力を育むことを目的に、指導者は「キーワードを含む質問の繰り返し」「じっと待つ」「補う」など、具体的な制作活動を通してどのようにしてきたか事例を報告する。

2 「クラブの二本柱」

クラブの活動は、二本の柱で成り立っている。

A 「科学の知恵を伝える」活動

何もない所に創造は無い。いくら強力に宝箱活動^後_{記B}を推奨しても、「考えてみなさい」「探してみなさい」だけでは、無用に子どもたちを苦しめることになる。そこで、指導者の得意分野を生かして伝えたいテーマをもとに素材や仕組みを提示・伝達・提案する時間を設定している。子どもたちは、ものづくりをしながら、素材への理解を深めたり、「どうする」と「どうなる」と観察・実験し、自分自身で工夫を加えたりすることができる。指導者から見て「科学の知恵を伝える」活動である。

B 「宝箱」活動

子どもたち自身の発想で作る活動である。当クラブでは、これを「宝箱」と呼んでいる。発想、創造は、暮らしの中で繰り返され積み上げられる観察・関心・思考・会話などの脳のはたらきから生み出されるものであろう。有用な物を生み出す「脳」を「宝箱」に例えた。未完のアイデアを指導者全員が書きためるノート「宝箱」もあるが、最近の利用が少ない。

なお、年間のスケジュールからみると、柱のAとBの順番が反対になっている。子どもたちが発

明くふう展へ応募することを考え、部分的にでも入れ換えるように試みたが、今一つすっきりしていない。

3 「科学の知恵で作る楽しさを味わう」

上の「科学の知恵を伝える」活動の形を取りながら、「宝箱」活動でねらっている創造や思考、改良のための試行・観察の視点などをすべての子どもに能率よく指導するかどうか？どうなる？物語>は子どもに人気がある。これまで、指導者の立場から効率が良い活動だと捉えていた。間違いではないけれど、子どもの側からいうと、「知っている科学の知恵を駆使して作ったり作り直したりする楽しさを味わっている」ので「新しく科学の知恵を学ぶ」ことは少なくなる。そういう意味から、Aの改善は、子どもが好む自分の力を確かめるような活動、努力するとだんだん上手になる技や運動、ゲーム性のある活動、友達と競う遊びなどの要素を核にして、科学の知識を知ることができるようにするのがよいと考えるに至った。

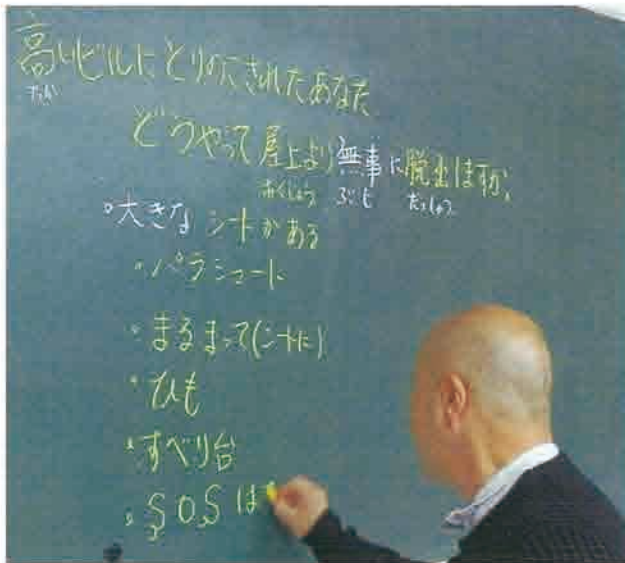
これまでに報告してきたかどうか？どうなる？物語>を振り返ってみると、どの物語にも、前記した子どもが好む要素に、構造物を強くするL型・円筒形・トラス構造・ラーメン構造などの「科学の知恵」を伝えていたことがわかる。

そこで、今回は、「卵が割れないように落とす」活動を試みた。ゲームや遊び的には、<割れるか割れないか>ははっきりした結果を友達や自分自身の期待と競うことであり、割れたとしても、そのまま受容できることである。また、「科学の知恵」では、低反発素材を見せたり緩衝材を体験に理解させたりすることができる。

4 「卵が割れないように落とす」

(あ) 課題の提示

昨年度の「ビル火災からの脱出」に続いて次のように始めた。



上の写真は、問題場面を提示した後、子どもたちの発言をそのまま書き取っているところである。



脱出方法をいろいろ考えたが本当に安全かどうか、卵を使って実験しようとして提案して指導者の意図する方向へ向かう。

脱出の実現性には無責任で大人頼りの気楽な発言をしていた子どもたちは、スーパーの鶏卵パックを見て、声を上げた。自分たちの問題として降りかかってくると、不安と挑戦意欲が混じり合う。子どもたちがこのような状態になると、創意・工夫の楽しさをクラブ員全体に能率よく指導し体験させようとする〈どうする？ どうなる？ 物語〉の重要なステップの一つをクリアしたといえよう。

(い) 解決へのヒント

子どもがすんなりと解決の糸口を考え出せないと感じた指導者の次の手段は、自然に学ぶという

方法である。



ここでは、上の写真のような種子を落として、くるくる回ったりふわふわ流れたりする様子を観察させる。

この段階には、「科学の知恵を伝える」意味がある。

さらに、シュレッダー層で卵を包んだり床に置いた低反発マットの上を狙って卵を落としてみせたりする。

下の写真で、矢印の子どもは、卵が壊れること



を予測していたのであろう。落ちた瞬間思わず後ずさりして椅子に座り込みそうになっている。

落としながら指導者が子どもに伝えた科学の知恵を要約すると、

- ① ゆっくりと落ちるようにする。
- ② 落ちた時のショックをやわらげる。

である。

①の対策としては、パラシュート、回転。
 ②の対策としては、レーシングカーの様に先がつぶれやすい、緩衝材。

(う) 解決のための物づくり

例によって問題を解決するためのものづくりの材料は制限してある。四つ切りの画用紙1枚、小型のセロファンテープ1巻、ホチキス針は制限なしである。

本稿テーマの「支援」からは、余談になるが、<どうする？どうなる？物語>がもたらす



新しい効果を発見した。それは、指導の意図がすんなり子どもたちに受け入れられた時、指導者

が味わう充実感である。

問題提示に使うチョットした物探し、子どもが作る物の試作・検討から材料集め、物語の創作まで、ボランティア活動を支援している環境の一つに、この充実感がある。

偶然にシャッターが出くわした上掲写真の子どもと指導者の一瞬の身振りにそれが映し出されているように感じたので、脇道に入ったことを承知で挿入した。

(え) 作品による自己表現

作品例

次の写真↓傘が受けた空気を逃がさないようにしている。パラグライダーをイメージしているが揚力については考慮されていない。



↓落下傘+卵が直接衝撃を受けにくくする円筒状のケースに卵を入れる。

落下傘の紐に当たる部分が二重になるようにして強くしてある。紐の1本は、この後傘に貼りつける。



←着地する時のイメージ
 卵台、卵、落下傘の順に軟着陸する。途中で卵が転がり落ちないかな？



←お父さんの作品
 タンポポの綿毛のイメージだったようで、パラシュートに開けてある穴の効果があって、安定した姿で落

下した。

→飛行機のイメージ
 胴体に少量の紙くずと一緒に卵を納めた。翼の形を切りそろえていて翼が小さくなった。





←左手で持っているところを下、卵を上にして落とす。着地した時卵の下の円筒がつぶれるイメージ。落ちて

倒れても卵が土にぶつからないように支えを付けた。支えも円筒形。

↓左のような短冊状に切り、半分に軽く折ってばねのような効果を出した緩衝材を作った。これを紙片で包み、右のような筒状の傘に納めて落とした。

傘の側面の穴はつぶれやすくするためか？左右に揺れながら落ち、卵は割れなかった。



←種子が回転しながら落ちたので、真似をした。画用紙に平面のまま切り込みを入れ、4つの羽根部分を円錐状にしてある。

→卵を入れるケースが円錐形なのは、着地して先がつぶれることと、空気をかき分けてまっすぐ落ちるイメージ。回転を確実にするためひねったプロペラ状の羽根を4枚とりつけた。



このほか、底の浅い箱を逆さにしたような傘（空気を集める）、円錐の先に穴をあけて、空気が抜け

るようにした傘（安定）、傘と卵とを結ぶ紐を長くする（重心を下げる）、傘を2階構造にした（より多く空気を受け止める）、画用紙で卵を包み、鉛筆ケースのようにして傘を使わない物などが作られた。

落下実験では卵（ゆでてある）のひび、砕けた、無傷の判定をしたが、風に流され、落下途中で壁にぶつかったり、植込みに軟着陸したりで、ケースや落下傘の構造との関係付けができるようなデータにはならない。残念ながら、作り直し繰り返し試みる時間はなかった。

（お）小学校理科との関係

空中を落ちる物を作るので、小学校理科、風や空気の学習とどうかかわっているのか、何が期待できるのかを知りたくて、知識や体験の積み上げという観点から調べてみた。

3年生に「風」の力、4年生に「閉じ込めた空気」の学習がある。風では、物が動くことを観察したり、風を起こして物を動かしたりして風にエネルギーがあることを学習している。目に見えない「もの」を目に見える現象に置き換えて調べることは、理科を通して狙っている見方考え方の一つである。けれど、3年生の段階では、風は風（現象）であり、「重さやかさがある物」としての認識ではなかろう。

4年生からは、空気の「かさ」を体験するので、学習済みの5年生以上では、傘を作って受け止めるとか、羽に空気を受けて回転できるようにするなどの発想は容易であろう。

いずれにしても、卵を落として状況を観察し、落とし方を改良するかどうか？どうなる？>は理科の見方考え方そのものであろう。

卵を納めるケースについては、エネルギーを吸収とか分散することになるので、構造を工夫できるのは、指導者の簡単な説明と日常の体験でしかない。多くを望むことはできないであろう。

(か) 子どもの感想文から

落とすことに気持ちを残しながら短時間で記述式のアンケートに答えてくれた 13 名のうち半数の子どもが、めあてを実現するために考えるのが楽しいと答えている。

たとえば、

・(6年生) 頭を使い卵が割れないようにするのが楽しかった。

・(5年生) どうやったらスピードをおそくできるか、しょうげきを少なくできるか考えるのが楽しかった。

・(4年生) 落ちる時のショックを押さえる工夫が楽しかった。

これに対し、(6年生) 落ちるのを見るのが楽しかった。(4年生) きれいにふわふわと落下したのでうれしかった。の表現があった。

どちらも落ちる時の状態に対してねらいをもった製作をしているので、(6年生) イメージ通り落ちるのが、(4年生) ゆっくり落そうと思って作ったので、と、つけ加えて読み取ると、科学の知恵を自分なりに工夫した方法で(製作材料に制限があるので) 確かめるのは<楽しい><うれしい>と解釈できよう。

上の 2 名以外全員が、複数の製作意図と落下途中の様子や卵の状態を書いている。次には〇〇をしたいと書いた子どもは 8 人で、樹木に巣をつくる鳥の卵にまで思いをはせた子どもがあった。

子どもが自分の言葉で書いてくれたアンケートを読んでいて、次のような感想をもった。

<どうする? どうなる? 物語>の条件の一つに「ゲーム性」を挙げた。「ゲーム性」とはいったい何を指していたのか? 自分で書いておきながら言葉で表現できなくなっている。理科・工作を基盤にする発明クラブが使う言葉としてふさわしくないように思う。

5 「言葉や物による自己表現」

本年度はTV放送局の取材という特殊なよい条件に恵まれて、一部の子どもについてではあったがゆっくりと子どもの状況を観察することができた。

支援のキーワードにしている<どうする? どうなる?> <どうしたら、どうなった>のほかに、発明品を作った子どもには厳しいけれど、ものづくりには有効なく何が悪いのか、どのように改良するか>という言葉を受け止める子どもが出てきたことである。

以下、TVを通して岡山市民に発表した一部を要約する。

なお、子どもの発表をサポートしていた指導者の言葉には〇〇しなさいという命令形を使っていない。肯定と繰り返し、質問だけである。



上の写真、取材中の作品は、**忘れ物防止本立て作り**たい 時間割をしやすい本立てにして、忘れ物を防ぐ。

工夫 スイッチを曜日に合わせて、必要な教科書の場所に LED が点灯する。円盤をくるくる回すスイッチにしたい。

指導者の声：4教科に対応する4つの接点が平面で同時に接するように作るのは、困難が予想された。リードスイッチを使う方法もあるが、理解されないかもしれない部品を提案するより、不完全な作品になったとしても、「回路」を理解することに主眼を置いて、自作スイッチで通した。代わりの方法があっただけに果たしてどうだったか。

動作的には不完全でも、飾りを付けたり文字を書いたりしていたので、納得していたのではないかと思うことにしている。



←古新聞収納箱

きっかけ

古新聞をくくるとき母が大変だったので紐を掛けやすいように工夫をした。

工夫点 あらかじめ紐を掛けて置くときの順番を書いた。紐を掛けて置く場所の形を掛けやすく外れにくいように工夫した。紐のケースを箱に付け、紐を切る刃物を取り付けた。キャストを付け動かしやすくした。

指導者の声：箱の形が上に向かって少し広がっている。物づくりで形も大切な要素になることを全クラブ員に話す絶好の作品だと思いつつ、その機会を作ることを忘れていた。もうひとつ、箱の側面に大きく開けた窓はどのような役に立っているか、使用感を話すことによって、作品に対する工夫や愛着も深まるのではないかな？



←靴乾燥機

きっかけ

下校後湿った靴を早く乾かしたい

工夫 モーターで靴の中まで風を送る。タイマーを付けた。

*指導者の声：改良したいことはあるか。一匂い消しを付けたいなるほど。靴を載せる台を網にしたのも、使っていないとき折りたたむようにしたのも工夫です。タイマーは指導者の提案で、コンデンサーのはたらきを知ってほしかっただけなので、作品の作者はどれ程の必要感があつたか。確認できていない。

↓ Automatic curtain

きっかけ



目覚ましだけでは起きられないことがあるので、目覚ましでカーテンも開くようにした。

工夫 目覚ましでモーターの電源スイッチが入り、時計の電池に負担をかけないように回路。カーテンが開き切ったらカーテンのモーターが止まる仕組み。

*指導者の声：窓が開くとブザーが鳴るリードスイッチ応用の100円店の泥棒警報装置にネオジムを組み合わせて使うことにこだわって自力で回路を構成した。ネオジム磁石をそのまま使って開いたカーテンを止めるスイッチに利用したのが一番の満足である。



← 逃げる目覚まし

ベルが鳴ると逃げるようにしたい。理科の時間に作った電池自動車が使えないか。

工夫 目覚まし時計には、ベルのスイッチがあるはず。それを探し出して自動車のモーターをまわす。
*指導者が考えたこと。理科の自動車では、軽い時計に限る。100円店の時計はブザーが電子的にコントロールされていて、使い切れなかった。写真の時計は、子どもが探ししてきた。よく探し出した。理科の自動車が力不足になることは承知の上で、時計とモーターを結ぶことに工夫の主眼を置いた。回路ができれば、力強い自動車に代えることは可能と決断して作った。



↑ぬらさーず傘

きっかけ 傘の上面が内側になるようにたためれば、雨の日、乗り物で人や自分が濡れないとひらめいた。

工夫 傘が風にあおられた時に漏斗のようになる。上の骨を支えている骨の柄に近い所（中心）が上に滑るように加工すると、たたんだ時骨の先が傘の先になる。

*見た人の声：構造がすべて普通の傘の逆になっているようなので、広げることにはできるが、畳むときにどうすればよいのか、壊れはしないかと心配だった。

*指導者の声：すでにあるものの構造を利用してより便利な物を作ろうとするとき、元の構造が頭から離れず、考えが先に進まないことがよくある。こんな時、反対にしたり横にしたりすると、よいことがある。例えば、高い棚のなかを取りだそうとするとき、人が梯子を上るか、高い所の棚を下すかということ。ぬらさーず傘は考え方の見本だ。

お礼

岡山市少年少女発明クラブは、科学の知恵にふれ、応用している子どもたちは勿論のこと、子どもたちと一緒に過ごしている大人まで、充実感を味わっています。最初は引率だけのつもりで教室に来ていた保護者も子ども以上に活動する場面もあります。これひとえに、八雲環境科振興学財団のご支援の賜物と感謝しています。

(文責 阿比留博 水田雅明)

助成実施要項

12. 助成実施要項

公益財団法人八雲環境科学振興財団 研究助成制度実施要項

(趣旨)

- 第1 この要項は、公益財団法人八雲環境科学振興財団定款（以下「定款」という。）第4条第1号に基づき、公益財団法人八雲環境科学振興財団（以下「財団」という。）が行う、環境科学に関する研究助成の実施について定めるものとする。

(研究助成の対象)

- 第2 財団が行う研究助成は、次に掲げる学術研究に助成するものとする。
- 一 自然科学又は社会科学若しくは人文科学の分野における環境問題に係わる基礎並びに応用研究で、研究者が1人で行うもの、又は研究者が2人以上のグループで同一の研究課題について共同で行うもの。
 - 二 国の内外で、環境科学の学術的調査研究活動を行うもの。

(研究助成対象機関)

- 第3 財団の行う研究助成の対象者が所属する研究機関（以下「研究機関」という。）は、次に掲げるものをいう。
- 一 大学及び高等専門学校
 - 二 県及び県の附属研究機関
 - 三 民法第34条の規定により設立された学術的研究を行う法人
 - 四 前号に掲げるもののほか、学術的研究を行う機関で、財団において適当と認めるもの。

(推薦者)

- 第4 研究助成金の交付の申請には次の各号による研究機関代表者の推薦を受けなければならない。
- 一 研究機関に所属する研究者が1人で研究を行う場合は、当該研究機関の代表者又は学部長
 - 二 同一の大学で異なる学部の研究者2人以上が、同一の研究課題について共同して研究を行う場合は学長
 - 三 前号に掲げる場合を除くほか、異なる研究機関に所属する研究者2人以上が同一の研究課題について共同して研究を行う場合は、各研究機関の代表者

(研究助成の種別)

- 第5 研究助成は、その助成対象により、次のとおり区分する。
- 一 一般研究
財団が例示する先駆的又は独創的で将来性のある研究課題を対象とする。

二 特定研究

財団が毎年提示する基本テーマに関する研究課題を対象とする。

三 学術調査研究

国の内外で行われる環境科学に関する学術調査研究で、当財団において適当と認めたものを対象とする。

(研究助成の期間)

第6 前項に規定する研究助成の期間は、原則として1年とする。

(助成研究の募集)

第7 研究助成金の交付を申請しようとする者は、別に定める様式の研究助成申請書を、財団に提出するものとする。

(助成研究の選考)

第8 研究助成金の交付は、定款第52条に定める選考委員会において選考し、理事会の議を経て決定する。

(選考基準)

第9 助成の対象となる研究は、次の基準により審査する。

- 一 研究目的に対する学術的・社会的要請が大きいこと
- 二 研究計画が十分に検討され研究目的の達成可能性が高いこと
- 三 独創性に優れ、新たな研究分野として広がる可能性が高いこと
- 四 政府及び企業等の補助、助成が得難い等、当財団が助成する必要性が高いこと

(助成経費)

第10 助成研究者には、別に定める助成経費を支給する。なお、研究助成金は、申請課題の研究以外の目的に使用することはできない。

(報告書の提出)

第11 研究助成金の交付を受けた者は、助成期間終了後6ヶ月以内に、別に定める様式の研究成果報告書を、財団に提出しなければならない。

(雑則)

第12 研究助成金の交付を受けた者が、国立学校設置法第2条第1項に規定する国立学校に勤務するときは、助成金の受入れは、奨学寄附金委任経理事務取扱規則（文部省令第14号、昭和39年4月23日）に基づき、処理するものとする。

附 則

この要項は、平成24年10月1日から施行する。

公益財団法人八雲環境科学振興財団 国際研究交流助成制度実施要項

(趣旨)

- 第1 この要項は、公益財団法人八雲環境科学振興財団定款（以下「定款」という。）第4条第2号に基づき、公益財団法人八雲環境科学振興財団（以下「財団」という。）が選出する国内外の研究者等を、国内外で開催される国際研究集会等に派遣又は招聘することを助成すること並びに国内外の研究者（又はグループ）が共同で研究を行うことを助成することの実施について定めるものとする。

(国際研究交流助成の対象)

- 第2 この要項で対象とする国際研究交流助成は、次の条件を満たすものとする。
- 一 下記に示す国際研究集会への国内研究者の派遣
 - イ 外国で開催される研究集会であること。
 - ロ 国際的に権威のある学会、学術団体又は学術研究機関等が主催するものであること。
 - 二 下記に示す国内研究集会への海外研究者の招聘
 - イ 国内で開催される国際研究集会であること。
 - ロ 国際的に権威のある学会、学術団体又は学術研究機関等が主催するものであること。
 - 三 下記に示す国際共同研究のための派遣及び招聘
 - イ 協定等に基づき、国内外の研究機関で一定期間組織的に研究（研究機関の代表者が認めたもの）することを目的とした、国内研究者の派遣又は国外研究者の招聘であること。
 - ロ 国際的な共同研究を目的とした、研究者の交流や情報資料交換のための、一時的な国内研究者の派遣又は国外研究者の招聘であり、財団において適当と認めるもの。

(研究助成対象機関)

- 第3 財団の行う助成の対象者が所属する研究機関（以下「研究機関」という。）は、次に掲げるものをいう。
- 一 大学及び高等専門学校
 - 二 県及び県の附属研究機関
 - 三 民法第34条の規定により設立された学術的研究を行う法人
 - 四 前号に掲げるもののほか、学術的研究を行う機関で、財団において適当と認めるもの。

(推薦者)

第4 助成金の交付の申請には所属する研究機関代表者又は学部長の推薦を受けなければならない。

(助成対象研究者の募集)

第5 派遣又は招聘研究者の助成を希望する者は、別に定める助成申請書を所属機関の長を経て財団に提出するものとする。

(助成対象研究者の選考)

第6 派遣又は招聘研究者の助成選考は、定款第52条に定める選考委員会の議を経て理事会で決定する。

(選考基準)

第7 派遣又は招聘の助成は、対象研究者の以下の基準の充足状況により選考する。

- 一 優れた研究活動の実績があること。
- 二 国際研究集会においては、講演若しくは研究発表を行うこと又は座長になること等重要な役割を果たすこと。
- 三 国際研究交流における活動に必要な語学力を有すること。
- 四 国際研究集会への参加あるいは国際共同研究により、研究の著しい向上が期待されること。

(助成経費)

第8 派遣又は招聘研究者には、別に定める助成経費を支給する。

(報告書の提出)

第9 派遣研究者は又は招聘助成を受けた研究者は研究集会等終了後1ヶ月以内に、別に定める報告書を財団に提出しなければならない。

(雑則)

第10 助成金の交付を受けた者が、国立学校設置法第2条第1項に規定する国立学校に勤務するときは、助成金の受入れは、奨学寄附金委任経理事務取扱規則（文部省令第14号、昭和39年4月23日）に基づき、処理するものとする。

附 則

この要項は、平成24年10月1日から施行する。

公益財団法人八雲環境科学振興財団 研究集会助成制度実施要項

(趣旨)

- 第1 この要項は、公益財団法人八雲環境科学振興財団定款（以下「定款」という。）第4条第1号に基づき、岡山県内で開催される環境科学に関する研究集会、学術講演会、シンポジウム等（以下「研究集会」という。）に対し、公益財団法人八雲環境科学振興財団（以下「財団」という。）が行う助成の実施について定めるものとする。

(助成対象研究集会)

- 第2 財団が助成する研究集会は次のとおりとする。
- 一 学協会及びその支部が主催するもの
 - 二 公知された懇話会、研究会等が主催するもの
 - 三 財団が認める組織が主催するもの

(助成条件)

- 第3 研究集会への助成は、岡山県下の研究機関に常勤する研究者が世話人として申請するものでなければならない。
- 2 前項の研究機関は、次に掲げるものをいう。
- 一 大学及び高等専門学校
 - 二 県及び県の附属研究機関
 - 三 民法第34条の規定により設立された学術的研究を行う法人
 - 四 前号に掲げるもののほか、学術的研究を行う機関で、財団において適当と認めるもの。

(推薦者)

- 第4 助成金の交付の申請には、所属する研究機関の代表者又は学部長等の推薦を受けなければならない。

(助成研究集会の募集)

- 第5 助成金の交付を申請しようとする者は、別に定める様式の研究集会助成申請書を財団に提出するものとする。

(助成の選考)

- 第6 研究集会助成の決定は、定款第52条に定める選考委員会において選考のうえ、理事会の議を経て決定する。

(選考基準)

- 第7 助成の対象となる研究集会は、次の基準により審査する。
- 一 明確に限定された研究主題であり、新しい知識又は概念の展開の可能性が大きいこと
 - 二 研究法などの点で学術的価値が高いこと
 - 三 岡山県において開催する意義が明らかであること
 - 四 研究集会を開催するための組織と運営が明確であること

(財団名表示の義務)

- 第8 採択された研究集会は、刊行する印刷物等に共催、協賛、賛助等の冠を付し、財団名を記載しなければならない。

(助成額の基準)

- 第9 研究集会への助成額の交付基準は別に定める。

(報告書の提出)

- 第10 助成金の交付を受けた者は、研究集会が終了した後、1ヶ月以内に別に定める様式の報告書を財団に提出しなければならない。

(雑則)

- 第11 助成金の交付を受けた者が、国立学校設置法第2条第1項に規定する国立学校に勤務するときは、助成金の受入れは、奨学寄附金委任経理事務取扱規則（文部省令第14号、昭和39年4月23日）に基づき、処理するものとする。

(実施細則)

- 第12 この要項に定めるもののほか、必要な事項は別に定める。

附 則

この要項は、平成24年10月1日から施行する。

13. ご寄附のお願い

公益財団法人八雲環境科学振興財団は、平成10年に設立され、これまでに、省資源・リサイクル、環境計測、生態系保全をはじめ環境科学に関する多くの助成事業を行ってまいりました。今後、当財団の事業をより実りあるものにするため、広い分野の多くの方々に財団設立の主旨をご理解いただくとともに、ご指導・ご支援をいただくことが必要と考えております。

この寄附金は、事業目的の達成のために運用財産として使用させていただきます。

なお、当財団は、平成24年10月に公益財団法人として認定されており、このご寄附については、税制上の優遇措置を受けることができます。

また、岡山県下で開催される研究集会等につきまして、企業等から寄附を受ける場合、あるいは研究者個人またはグループを指定し、企業から寄附を受ける場合において、当財団が同意する場合は上記と同様に税制上の優遇措置を受けることができます。

上記の主旨をご理解いただき、ご寄附にご協力をお願い致します。

1. 募集の内容及び特典

募集期間	随時
対象	個人・法人
寄附金	個人1口 5,000円、法人1口 10,000円 特定指定寄附金(事務局までお問い合わせ下さい)
特典	・財団が発行する研究レポート集、財団ニュースの配付 ・財団が主催する研究発表会、その他事業企画等のご案内 ・その他理事長が必要と認める資料の配付

2. 税制上の優遇措置について

当財団は、公益財団法人の認定を受けております。当財団に対する寄附金には、税制上の優遇措置が適用されます。詳細は所轄の税務署又は税理士にお尋ねください。

個人寄附の場合	「所得控除」が受けられます。 (寄附金額-2,000円)の金額が所得金額から控除されます。 控除額は所得金額の40%が限度となります。
法人寄附の場合	通常的一般寄附金の損金算入限度額と別枠で、損金算入が認められます。

3. 寄附金申込み手続き

寄附申込書をダウンロードのうえ、郵送にて当財団事務局宛に送付後、ご送金手続きをお願いいたします。 当財団ホームページ → <http://www.ej-hds.co.jp/zaidan/>

4. お振込先

銀行名	三井住友銀行岡山支店
預金種類	普通預金
口座番号	6497055
口座名義	公益財団法人八雲環境科学振興財団 (フリガナ) コウエキザイダンホウジンヤクモカンキョウカガクシンコウザイダン

☆ご不明な点は事務局までお問い合わせ下さい。

公益財団法人 八雲環境科学振興財団

〒700-8617 岡山市北区津島京町 3-1-21 (株式会社エイト日本技術開発内)

TEL : 086-252-7670

FAX : 086-252-8918

e-mail : yakumo@ej-hds.co.jp

公益財団法人 八雲環境科学振興財団は、その年の自然環境の状況を残していきたいという思いから、毎年、発行する研究レポート集の表紙にその年の自然環境のイメージを画像で現しております。

今年は、年明けから早々に台風が発生し、毎月のように台風が発生した。そして日本列島に多くの台風被害をもたらした。その中でも9月に茨城県鬼怒川の堤防が決壊するなどの大きな被害が関東・東北で起こった。

公益財団法人 八雲環境科学振興財団
研究レポート集 第16号

平成27年10月発行

発行 公益財団法人八雲環境科学振興財団
岡山市北区津島京町3丁目1-21
(株エイト日本技術開発内)
TEL (086)252-7670

印刷 吉備サプライ株式会社
岡山市北区野田4丁目2-20
TEL (086)805-2111



THE YAKUMO FOUNDATION FOR ENVIRONMENTAL SCIENCE

telephone: 086-252-7670

facsimile: 086-252-8918

URL: <http://www.ej-hds.co.jp/zaidan/>

公益財団法人 八雲環境科学振興財団

〒700-8617 岡山市北区津島京町三丁目1番21号(株)エイト日本技術開発内